

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Anita Liška, dipl.ing.

**INSEKTICIDNA TOKSIČNOST 1,8- CINEOLA, KAMFORA I EUGENOLA
NA *TRIBOLIUM CASTANEUM* (HERBST)**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Osijek, 2011.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Anita Liška, dipl.ing.

**INSEKTICIDNA TOKSIČNOST 1,8- CINEOLA, KAMFORA I EUGENOLA
NA *TRIBOLIUM CASTANEUM* (HERBST)**

- Doktorska disertacija -

Osijek, 2011.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Anita Liška, dipl.ing.

**INSEKTICIDNA TOKSIČNOST 1,8- CINEOLA, KAMFORA I EUGENOLA NA
TRIBOLIUM CASTANEUM (HERBST)**

- Doktorska disertacija -

Voditelj: prof. dr. sc. Vlatka Rozman

Povjerenstvo za ocjenu:

- 1. Prof. dr. sc. Irma Kalinović, redoviti profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, predsjednik**
- 2. Prof. dr. sc. Vlatka Rozman, izvanredni profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, mentor i član**
- 3. Prof. dr. sc. Mirjana Brmež, izvanredni profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, komentor i član**

Osijek, 2011.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Anita Liška, dipl.ing.

**INSEKTICIDNA TOKSIČNOST 1,8- CINEOLA, KAMFORA I EUGENOLA NA
TRIBOLIUM CASTANEUM (HERBST)**

- Doktorska disertacija -

Voditelj: prof. dr. sc. Vlatka Rozman

**Javna obrana doktorske disertacije održana je 04. veljače 2011. godine pred
Povjerenstvom za obranu:**

- 1. dr. sc. Irma Kalinović, redoviti profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku,
predsjednik**
- 2. dr. sc. Vlatka Rozman, izvanredni profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku,
mentor i član**
- 3. dr. sc. Mirjana Brmež, izvanredni profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku,
komentor i član**

Osijek, 2011.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Doktorski rad

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Poslijediplomski doktorski studij: Poljoprivredne znanosti

Smjer: Zaštita bilja

UDK:

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Poljoprivreda

Grana: Fitomedicina

Insekticidna toksičnost 1,8-cineola, kamfora i eugenola na *Tribolium castaneum* (Herbst)

Anita Liška, dipl.ing.

Rad je izrađen na Poljoprivrednom fakultetu Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Mentor: Prof. dr. sc. Vlatka Rozman

Sažetak: Testirana je kontaktna i fumigantna učinkovitost (u laboratorijskim uvjetima), 1,8-cineola, eugenola i kamfora na imago, ličinke i kukuljice kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst), i njihov utjecaj na potomstvo. Kontaktnom aplikacijom ostvareni su pozitivni rezultati za sve tri komponente na sva tri razvojna stadija *T. castaneum*, a najveću učinkovitosti je imao 1,8-cineol, slijedi eugenol, te kamfor. Fumigantna aktivnost sve tri komponente općenito je bila slabije izražena u odnosu na kontaktnu primjenu, a najbolji učinak na sve testirane razvojne stadije *T. castaneum* je postignut 1,8-cineolom, zatim kamforom, te eugenolom. Fumigacijom u ispunjenom prostoru zrnom pšenice zabilježeno je slabije djelovanje sve tri testirane komponente za sve razvojne stadije u odnosu na prazan prostor, s najboljim učinkom 1,8-cineola, zatim kamfora, te eugenola (eugenol nije imao letalan učinak za stadij imaga). Za ličinke, učinkovitost 1,8-cineola je u ispunjenom prostoru smanjena za 3,5x, eugenola za 32x, a učinkovitost kamfora se nije značajno mijenjala. Toksičan utjecaj komponenata na stadij kukuljice *T. castaneum* bio je izražen letalno, i s direktnim utjecajem na metamorfozu kukuljica u imago. Između spolova kukuljica zabilježene su značajne razlike u učinkovitosti komponenata, s najjače izraženim razlikama kod 1,8-cineola, te kamfora, a najslabije kod eugenola. Muški spol je općenito senzibilniji na komponente, a kod ženskog spola uočeno je više deformiranih jedinki (naročito u tretmanu fumigacije s kamforom). Općenito najtolerantniji stadij je stadij kukuljice; na kontaktnu i fumigantnu aplikaciju svih komponenata. Izuzetak je stadij imaga koji je najveću toleranciju imao samo pri fumigantnoj aplikaciji eugenola. Utjecaj na smanjenje broja potomstva *T. castaneum* imali su 1,8-cineol i eugenol, a kamfor nije utjecao na smanjenje F1 generacije. Generalno, s visokim potencijalom 1,8-cineola u suzbijanju *T. castaneum* (u svim tretmanima za sve razvojne stadije), kamfora u fumigantnoj aplikaciji za suzbijanje imaga (u praznom prostoru), kao i eugenola u kontaktnoj (za kontrolu svih razvojnih stadija) i fumigantnoj primijeni (za smanjenje broja potomstva *T. castaneum*), ove komponente predstavljaju osnovu za iznalaženje novih aktivnih tvari kao alternativu dosadašnjim konvencionalnim sredstvima za zaštitu uskladištenih proizvoda.

Broj stranica: 130

Broj slika: 16

Broj tablica: 59

Broj grafikona: 17

Broj literaturnih navoda: 151

Jezič izvornika: hrvatski

Ključne riječi: 1,8-cineol, kamfor, eugenol, *Tribolium castaneum*, imago, ličinka, kukuljice, potomstvo

Datum obrane: 04. 02. 2011.

Povjerenstvo za obranu:

1. **prof. dr. sc. Irma Kalinović** – redoviti profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, predsjednik
2. **prof. dr. sc. Vlatka Rozman** – izvanredni profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, mentor i član
3. **prof. dr. sc. Mirjana Brmež** – izvanredni profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, komentor i član

Rad je pohranjen u: Nacionalna i sveučilišna knjižnica u Zagrebu, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Sveučilište u Zagrebu, Sveučilište u Rijeci, Sveučilište u Splitu

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

PhD thesis

Faculty of Agriculture in Osijek

Postgraduate study: Agricultural sciences

Course: Plant protection

UDK:

Scientific Area: Biotechnical Sciences

Scientific Field: Agriculture

Branch: Phytomedicine

Insecticidal toxicity of 1,8-cineole, camphor and eugenol to *Tribolium castaneum* (Herbst)

Anita Liška, M.Sc.

Thesis performed at Faculty of Agriculture in Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

Supervisor: Prof. dr. sc. Vlatka Rozman

In laboratory conditions, contact and fumigant activity of 1,8-cineole, camphor and eugenol compounds were tested on adult, larvae and pupae of the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst), as well as their effect on progeny emerging. Positive results were obtained with contact application for all three tested compounds and on all three stages of development of *T. castaneum*, with the highest activity of 1,8-cineole, followed by eugenol and camphor. In general, fumigant activity of all three compounds was lower in comparison to contact application, with the best activity of 1,8-cineole, followed by camphor and eugenol on all three developmental stages of *T. castaneum*. However, lower activity was recorded for fumigation of the space 50% filled with wheat grain for all three tested compounds on all three developmental stages, with the best activity of 1,8-cineole, followed by camphor and eugenol, whereas eugenol showed no toxicity to the adult stage. The activity of 1,8-cineole and eugenol in the space 50% filled with wheat grain decreased by 3.5 and 32 times, respectively, whereas the activity of camphor had no significant difference on the larvae. Toxicity of the tested compounds to the pupae stage of *T. castaneum* was either lethal or directly influenced to metamorphosis pupae into adults. There were significant differences observed in the efficacy of the tested compounds on the gender of the pupae, with the most markedly differences for 1,8-cineole, followed by camphor and the minimal for eugenol. Males were more sensitive to the applied compounds, whereas females had more deformed units, especially in the fumigation treatment with camphor. The most tolerant stage on the contact and fumigant application of all compounds was the pupae stage. However, the adult stage had the highest tolerance only at fumigant application of eugenol. 1,8-cineole and eugenole compounds had the influence on the reduction of the *T. castaneum* progeny emergence, whereas camphor had no such an effect. Due to a high potential of 1,8-cineole for the control of the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) (at all treatments, for all the tested stages of development), of camphor for the fumigant control of adult (in the empty storages), as well as of eugenol (for contact control of all developmental stages) and for fumigant application (for the reduction of adult *T. castaneum* progeny), these compounds represent a valuable basis for creating new active substances as an alternative to the conventional pest control products.

Number of pages: 130

Number of figures: 16

Number of tables: 59

Number of graphs: 17

Number of references: 151

Original in: croatian

Key words: 1,8-cineole, camphor, eugenol, *Tribolium castaneum*, adult, larvae, pupae, progeny

Date of the thesis defense: 04. 02. 2011.

Reviewers:

1. **PhD Irma Kalinović, full professor** – Faculty of Agriculture in Osijek, President
2. **PhD Vlatka Rozman, associated professor** – Faculty of Agriculture in Osijek, Mentor/member
3. **PhD Mirjana Brmež, associated professor** – Faculty of Agriculture in Osijek, Co-Mentor/member

Thesis deposited in: National and University Library, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, University of Zagreb; University of Rijeka; University of Split

KAZALO

1. UVOD	1
1.1. Pregled literature	4
1.1.1. Toksičnost eteričnih ulja na niže razvojne stadije štetnika	13
1.1.2. Mehanizam djelovanja eteričnih ulja na metabolizam kukaca	18
1.1.3. Prednosti i nedostaci eteričnih ulja u zaštiti poljoprivrednih proizvoda	19
1.2. Cilj istraživanja	22
2. MATERIJAL I METODE RADA.....	23
2.1. MATERIJAL RADA	24
2.1.1. Komponente eteričnih ulja.....	24
2.1.2. Test kukci	24
2.2. METODE RADA.....	28
2.2.1. Uzgoj test kukaca <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst)	28
2.2.2. Kontaktna toksičnost 1,8-cineola, kamfora i eugenola	28
2.2.3. Fumigantna toksičnost 1,8-cineola, kamfora i eugenola.....	29
2.2.4. Test potomstva (progeny test) kestenjastog brašnara <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst)	32
2.2.5. Statistička obrada podataka	33
3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA	34
3.1. REZULTATI KONTAKTNE DJELOTVORNOSTI 1,8-CINEOLA, KAMFORA I EUGENOLA	34
3.1.1. Stadij imaga kestenjastog brašnara <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst).....	34
3.1.2. Stadij ličinke kestenjastog brašnara <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst).....	37
3.1.3. Stadij kukuljice muškog spola kestenjastog brašnara <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst).....	41
3.1.4. Stadij kukuljice ženskog spola kestenjastog brašnara <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst)	45
3.2. REZULTATI FUMIGANTNE DJELOTVORNOSTI 1,8-CINEOLA, KAMFORA I EUGENOLA	49
3.2.1. Stadij imaga kestenjastog brašnara <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst).....	49
3.2.1.1. Tretman fumigacije u praznom prostoru.....	49
3.2.1.2. Tretman fumigacije u prostoru spunjenom zrnom pšenice	53
3.2.1.3. Usporedba tretmana fumigacije	57
3.2.2. Stadij ličinke kestenjastog brašnara <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst).....	58
3.2.2.1. Tretman fumigacije u praznom prostoru.....	58
3.2.2.2. Tretman fumigacije u prostoru ispunjenom zrnom pšenice	62
3.2.2.3. Usporedba tretmana fumigacije	66
3.2.3. Stadij kukuljice kestenjastog brašnara <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst) muškog spola.....	67
3.2.3.1. Tretman fumigacije u praznom prostoru.....	67
3.2.3.2. Tretman fumigacije u prostoru ispunjenom zrnom pšenice	72
3.2.3.3. Usporedba tretmana fumigacije	76
3.2.4. Stadij kukuljice kestenjastog brašnara <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst) ženskog spola	78
3.2.4.1. Tretman fumigacije u praznom prostoru.....	78
3.2.4.2. Tretman fumigacije u prostoru ispunjenom zrnom pšenice	82

3.2.4.3.	Usporedba tretmana fumigacije	86
3.2.5.	Učinkovitost komponenata po spolovima kukuljica kestenjastog brašnara <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst)	88
3.2.5.1.	Tretman fumigacije u praznom prostoru.....	88
3.2.5.2.	Tretman fumigacije u prostoru ispunjenom zrnom pšenice	92
3.3.	REZULTATI TESTA POTOMSTVA KESTENJASTOG BRAŠNARA <i>TRIBOLIUM CASTANEUM</i> (HERBST).....	97
4.	RASPRAVA.....	100
4.1.	BIOAKTIVNOST KOMPONENTATA ETERIČNIH ULJA NA STADIJ IMAGA KESTENJASTOG BRAŠNARA <i>TRIBOLIUM CASTANEUM</i> (HERBST)	100
4.2.	BIOAKTIVNOST KOMPONENTATA ETERIČNIH ULJA NA STADIJ LIČINKI KESTENJASTOG BRAŠNARA <i>TRIBOLIUM CASTANEUM</i> (HERBST)	103
4.3.	BIOAKTIVNOST KOMPONENTATA ETERIČNIH ULJA NA STADIJ KUKULJICA KESTENJASTOG BRAŠNARA <i>TRIBOLIUM CASTANEUM</i> (HERBST)	106
4.4.	UTJECAJ KOMPONENTATA ETERIČNIH ULJA NA POTOMSTVO KESTENJASTOG BRAŠNARA <i>TRIBOLIUM CASTANEUM</i> (HERBST).....	109
5.	ZAKLJUČCI	111
6.	LITERATURA	113
7.	SAŽETAK.....	125
8.	SUMMARY	127
9.	ŽIVOTOPIS	129

1. UVOD

Počeci problema sa skladišnim štetnicima vezuju se još za početke poljoprivrede, kao grane naroda Staroga Svijeta u vrijeme Bliskog Istoka, pa i ranije. Tako i primjena različitih pripravaka za zaštitu usjeva, pronalazi svoje početke s potrebom da se ljetina sačuva tijekom zimskog perioda (Panagiotakopulu et al., 1995).

Najstariji pisani izvori koji izričito upućuju na primjenu prirodnih pripravaka za zaštitu od štetnika potječu iz Egipta (Bodenheimer, 1928). Tako medicinski leksikon, poznat kao „Ebers Papyrus“ iz 1600. godine prije Krista sadrži i kemijske i organske supstance preporučene kao insekticide (Ebbell, 1937).

Skladišni kukci čine nekoliko tipova ekonomskih šteta na uskladištenoj robi. Opseg i važnost ovih šteta ovisi o vrsti štetnika, o proizvodu koji se skladišti, te o njegovoj namjeni. Sama prisutnost skladišnih kukaca, dijelova tijela i izmeta mogu predstavljati izvor onečišćenja što dovodi do smanjenja tržišne vrijednosti proizvoda. Kako raste populacija kukaca, hraneći se, mogu smanjiti količinu uskladištenog proizvoda. Kada skladišni uvjeti postanu pogodniji za rast populacije kukaca, ekonomski gubici se povećavaju. Također, hraneći se klicom, mogu značajno narušiti i sjetvene osobine sjemena. Osim toga, skladišni štetnici mogu biti vektori različitih uzročnika bolesti i djelovati kao alergeni (Korunić, 1990). Procjena mogućeg gubitka uskladištene mase, nastale ishranom skladišnih kukaca, važna je za izračun troškova potrebnih za smanjivanje ekonomskih gubitaka tijekom skladištenja. Procijenjeno je da godišnji poslije-žetveni gubici nastali uslijed napada skladišnih kukaca, mikrobiološkog kvarenja i drugih faktora, iznose 10-25% svjetske proizvodnje (Matthews, 1993). U Republici Hrvatskoj, gubitak mase uskladištenih proizvoda iznosi otprilike 5% (Korunić, 1990). Neke vrste skladišnih kukaca mogu izazvati veće gubitke u masi robe od drugih. Autori Hagstrum i Subramanyam (2006) razradili su procjenu relativnog gubitka mase uskladištene robe za različite skladišne kukce tijekom njihova životna vijeka. Utvrdili su da odmah iza vrste *Cynaesus angustus* Leconte, koja čini najveće gubitke, dolazi vrsta *Tribolium castaneum* (Herbst), koja se ujedno po brojnosti populacije u našoj zemlji nalazi na trećem mjestu (Kalinović and Rozman, 2002).

Najčešće metode u zaštiti uskladištenih proizvoda od skladišnih štetnika koje se danas provode su kemijske mjere zaštite. To podrazumijeva primjenu sintetičkih insekticida i fumiganta, koji su najbolje prihvaćeni u praksi, što ima svoje pozitivne i negativne strane.

Pozitivno je što kemijske mjere relativno brzo i efikasno rješavaju postojeći problem zaraze štetnicima, te imaju opravdanje i kao kurativna mjera zaštite. S druge strane, osim opasnosti za okoliš i kontaminaciju proizvoda, učestala uporaba kemijskih pripravaka iste aktivne tvari pospješuje nastanak rezistentnih vrsta skladišnih kukaca na uobičajene sintetičke insekticide (npr. malation, fenitrothion, pirimifos metil, itd.). Osim toga, neki od kemijskih insekticida se isključuju s liste dopuštenih zaštitnih sredstava radi opasnosti za ljudsko zdravlje (klorpirimifos metil), zabrinutosti za okoliš (metil bromid - oštećuje ozonski omotač), i nedozvoljenih rezidua u žitaricama ili njihovim prerađevinama (Snelson, 1987). Zadnja četvrtina 20. stoljeća obilježila je povlačenje iz uporabe velikog broja aktivnih komponenti koje su se koristile kao fumiganti. Metil bromid, fumigant s najširim spektrom djelovanja, ukinut je 2005. godine u razvijenim zemljama, a za zemlje u razvoju će biti povučen iz uporabe do 2015. godine (Montreal Protocol, 1995). Fosfin, jedini drugi fumigant korišten u cijelom svijetu, uglavnom za fumigaciju žitarica, ali i suhog voća, orašastih plodova, kaka, riže i kave, trenutno je u ponovnoj provjeri prema zakonskim odredbama zemalja Europe i SAD-a (Bell, 2000). Sve to doprinosi potrebi za razvojem novih spoznaja o metodama suzbijanja štetnika koje su učinkovite, a ipak ne ostavljaju štetne rezidue u proizvodu. Među njima, značajno mjesto zauzimaju i botanički insekticidi.

Botanički insekticidi su prirodni derivati izolirani iz biljnih vrsta. Pripadnici raznih plemena su ih koristili stoljećima davno prije no što su introducirani u Europu i SAD. Naime, još u vrijeme široke prakse mumifikacije u Egiptu, koristile su se neke tvari (bitumen, prirodna soda i sol) za koje se smatralo da su potpomagale isušivanje mumificiranih tijela i da su imale i repelentna svojstva odbijajući štetnike iz roda Diptera i Coleoptera: *Dermestidae* (David and Trapp, 1984).

Prema navodima autora Panagiotakopulu et al. (1995), Aristotel i Teofrast, smatrali su kako je maslinovo ulje učinkovit insekticid, naročito s dodatkom mažurana (*Origanum majorana* L.) i korijandra (*Coriandrum sativum* L.). Također, brojni arheološki nalazi i pronalasci sjemena različitih biljnih vrsta, za koja je dokazano da imaju insekticidna svojstva, potvrđuju da „botanički insekticidi“ imaju znatno stariju primjenu nego što se pretpostavlja. Iz zemljanih naslaga rimskih ostataka, na području južne Engleske, pronađeno je sjeme pinije (*Pinus pinea* L.) pomiješano s pšenicom, kao i sjeme korijandra pomiješano s mahunarkama na području otoka Santorini, iz vremena kasnog Brončanog doba. Prema ovim nalazima, isti autori zaključuju da aromatične biljke imaju insekticidne karakteristike.

Botanički insekticidi su se značajnije koristili u zaštiti poljoprivrednih proizvoda sve do široke primjene sintetičkih insekticida. Jedini botanički insekticid korišten u SAD-u u periodu od 1945. godine do 1970-tih godina bio je piretrin izoliran iz buhača (*Pyrethrum cinerariaefolium* D.C.) (Jefferson, 2000).

Za određena esencijalna biljna ulja koja se koriste kao mirisi i arome u industriji parfema i hrane, već dugo se zna da privlače kukce (Jacobson, 1989). No kasnija istraživanja potvrdila su ne samo da privlače, već i da imaju insekticidno (kontaktno i fumigantno) djelovanje prema velikom broju vrsta kukaca, ali i fungicidno djelovanje prema važnijim uzročnicima biljnih bolesti (Paster et al, 1995).

Biljne aktivne komponente koje su toksične za kukce u obliku para mogu se grupirati u pet kategorija: monoterpeni, cijanohidrini i cijanati, sumporne tvari, alkaloidi i drugi. Među njima, najveći značaj za fumigantnu aktivnost u suzbijanju skladišnih kukaca imaju monoterpeni. Biljna eterična ulja imaju u svom sastavu stotine različitih tvari, ali samo nekoliko komponenata je prisutno u većem udjelu (Rajendran and Sriranjini 2008).

Jedna od prednosti primjene biljnih insekticida u odnosu na sintetičke je niska toksičnost za sisavce te brza razgradivost. Tako su eugenol i druge aktivne komponente esencijalnih ulja, neperzistentni u tekućoj vodi i tlu, u anaerobnim uvjetima na 23°C (Misra and Pavlostathis, 1997.; Rabenhorst, 1996), što potvrđuje ekološki aspekt njihove uporabe kao mogućeg fumiganta. Komponenta 1,8-cineol je sastavni dio esencijalnog ulja dobiven iz lišća biljke eukaliptusa (*Eucalyptus globulus* L.), u medicini se koristi kao sredstvo za iskašljavanje, te kao kozmetički preparat. Kao prirodni biljni derivat, 1,8-cineol je vrlo slabe toksičnosti za sisavce, te se koristi u brojnim ispitivanjima toksičnosti na skladišne kukce.

U zadnjih 15-20 godina značajno je porastao interes za primjenom botaničkih insekticida, kao rezultat ekološke osviještenosti, ali i sve veće rezistentnosti kukaca na konvencionalna kemijska sredstva. Danas se u svijetu na tržištu mogu naći gotovi botanički pripravci, odnosno ekstrahirane biljne komponente kao što su azadiraktin – komponenta iz sjemena biljke *Azadirachta indica* (A. Juss), a na tržište dolaze pod komercijalnim imenom „Rakshak gold“ i „Plasma power“. To su proizvodi koji pokazuju insekticidno, repelentno i akaricidno djelovanje za većinu skladišnih štetnika i primjenjuju se za zaštitu manjih količina uskladištenih proizvoda (Kalinović i Rozman, 1999).

Botanički insekticidi, neosporno predstavljaju značajnu alternativu sintetičkim insekticidima i otvaraju nove mogućnosti u zaštiti uskladištenih žitarica.

1.1. Pregled literature

U potrazi za alternativama u zamjenu za konvencionalne insekticide, značajno se ispituju esencijalna ulja, ekstrahirana iz aromatičnog bilja. Tijekom zadnjih dvadesetak godina značajno porastao je interes za ispitivanjem toksičnosti esencijalnih ulja na skladišne štetnike. Ispitivano je djelovanje velikog broja biljnih ekstrakata i sekundarnih metabolita na skladišne štetnike, te je utvrđeno da mogu imati insekticidno ili repelentno djelovanje, ili pak protu-izjedajuće djelovanje („antifeedant“) (Grainge and Ahmed, 1988; Arnason et al., 1989, Jacobson, 1989).

Poznato je da začini i njihovi ekstrakti posjeduju različite efekte na kukce, uključujući kukce uskladištenih poljoprivrednih proizvoda (Jacobson, 1989). Smatra se da esencijalna ulja djeluju kao alelopatski agensi ili iritanti koji čuvaju biljku od napada kukaca kao i od infekcija parazita (Simpson, 1995). Dokazano je da su esencijalna ulja i njihove komponente potencijalni izvor botaničkih insekticida (Singh and Upadhyay, 1993).

Autori Rajendran i Sriranjini (2008) u svome radu navode da su do 2008. godine eterična ulja i njihove komponente testirana na 20-ak kukaca iz reda Coleoptera, te 4 iz reda Lepidoptera. Među najčešće ispitivanim vrstama kukaca su odrasli stadiji kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst), rižinog žiška *Sitophilus oryzae* (L.), kukuruznog žiška *Sitophilus zeamais* (Motsch.) i dominikanskog brašnara *Rhyzopertha dominica* (F.), te neki pripadnici kukaca iz porodice *Bruchidae*.

Znanstvenik Koul (2004) ispitivao je fumigantnu toksičnost di-*n*-propyl disulfida, koji je prisutan u sjemenu biljke indijskog muškatnog oraščića (*Azadirachta indica* A. Juss) na imaga *S. oryzae*, te na ličinke i imaga *T. castaneum*. On je uočio da je imago vrste *S. oryzae* tolerantniji nego imago vrste *T. castaneum*. Također je utvrdio da se osjetljivost ličinki *T. castaneum* starenjem smanjuje.

Toksičnost para eteričnog ulja biljke *A. indica* (apliciran na jutene vreće za čuvanje zrna kakaovca), ispitivao je znanstvenik Bullington (1998) na kakaovom moljcu *Ephestia cautella* (Walker) i duhanaru *Lasioderma serricorne* (Fabr.).

Dokazano je da esencijalna ulja nekoliko začinskih biljaka kao što su anis (*Pimpinella anisum* L.) i menta (*Mentha piperita* L.) posjeduju fumigantnu toksičnost protiv četiri značajna skladišna štetnika *R. dominica*, *T. castaneum*, *S. oryzae* i *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Shaaya et al., 1991).

Ispitivanjem esencijalnih ulja bijelog luka, znanstvenici su utvrdili insekticidno djelovanje na *T. castaneum* i *S. zeamais* (Ho et al., 1996).

Vrlo dobre rezultate pokazale su pare eteričnog ulja dobivenog iz rizoma *Acorus calamaus* (L.), indijske autohtone biljke, na mortalitet *Callosobruchus chinensis* (L.), *S. granarius*, *Tribolium confusum* (Du Val.) i *R. dominica* (El-Nahal et al., 1989.; Risha et al., 1990). Dokazano je da su mlađi razvojni stadiji osjetljiviji, a najbolji toksični efekat ostvaren je kod štetnika *C. chinensis*.

Također su ispitivana razna esencijalna ulja i njihove komponente (terpenoidi) protiv štetnika *Trogoderma granarium* (Everts.) (Sighamony et al., 1990). Autori su zaključili da ulja biljnih vrsta *Cananga odorata* L. (Ylang-Ylang), *Lavandula latifolia* L., te izolirani terpenoidi pokazuju dobru kontaktnu toksičnost, kao i dobru repelentnost prema ispitivanom štetniku.

Za monoterpe, sekundarne biljne metabolite, smatra se da pomažu biljkama u kemijskoj obrani protiv patogenih kukaca, bakterija i gljiva (Whittaker, 1970). Monoterpeni su u mogućnosti stupiti u toksičnu interakciju s biokemijskim i fiziološkim funkcijama kukaca (Brattsten, 1983), a većina monoterpena nije akutno toksična za sisavce (Rice and Coats, 1994; Klocke et al. 1987).

Coats et al. (1991) ispitali su sastav eteričnih ulja koja sadrže monoterpe ili njihove srodne komponente: alkohole, ketone, aldehide, karboksi-kiseline i okside, kao što su d-limonen, β -mircen, χ -terpensko ulje, linalensko ulje i pulegon. Plinskom kromatografijom i masenom spektrometrijom (GC/MS) esencijalnih ulja biljke *Miconia minutiflora* (Bonpl.), otkrivena je kompleksna mješavina tvari, uključujući monoterpen 1,8-cineol, kao glavnu aktivnu komponentu protiv stjenica (Prates et al., 1993). Monoterpen 1,8-cineol, sastavni je dio esencijalnog ulja dobiven iz lišća biljke eukaliptusa čija količina može varirati (Gibson et al., 1991). Kao prirodni biljni derivat, vrlo je slabe toksičnosti za sisavce, te se koristi u brojnim ispitivanjima toksičnosti za skladišne kukce. Tako su Prates et al. (1998) utvrdili da monoterpeni 1,8-cineol i limonen (derivat esencijalnih ulja biljke limuna) imaju značajan insekticidni efekat protiv dva skladišna štetnika (*R. dominica* i *T. castaneum*), pokazujući kontaktni, fumigantni i protu-izjedajući učinak. U fumigantnom djelovanju, 1,8-cineol je bio učinkovitiji na *R. dominica* nego na *T. castaneum*, limonen je pak imao otprilike isti učinak na mortalitet ($\geq 95\%$) kod obje vrste kukaca, ali je bio učinkovitiji za *T. castaneum* u odnosu na 1,8-cineol. U kontaktnoj primijeni 1,8-cineol je bio toksičniji na *T. castaneum* nego na *R. dominica*. U kontaktnom i/ili ingestivnom djelovanju preko tretiranih zrna pšenice zabilježena je ekvivalentna učinkovitost 1,8-

cineola za obje vrste štetnika. Međutim, limonen je bio učinkovitiji za *T. castaneum* nego za *R. dominica*. Kombinirani je učinak izazvao maksimalni mortalitet od približno 100%.

Autori Lee et al. (2004) u svom radu navode da od 42 esencijalna ulja ekstrahirana iz biljnih vrsta porodice *Myrtaceae* u Australiji, 6 esencijalnih ulja pokazuje potencijalnu fumigantnu toksičnost protiv 3 glavna skladišna štetnika; *S. oryzae*, *T. castaneum* i *R. dominica*. Esencijalna ulja bogata 1,8-cineolom izdvojena su za daljnja istraživanja za moguću komercijalnu uporabu.

Uočeno je da sojevi *T. castaneum* rezistentni na fosfin, ne pokazuju nikakvu unakrsnu rezistentnost na 1,8-cineol (Lee et al, 2004a).

Skupina autora Obeng-Ofori et al. (1998) ispituju aktivnost eteričnih ulja sukulentnih biljnih vrsta iz roda *Ocimum*. Naime, ispitivali su djelovanje 1,8-cineola, eugenola i kamfora, glavnih komponenti eteričnih ulja *Ocimum kenyense* (Ajob.), *O. suave* (Willd.) i *O. kilimandscharicum* (Baker ex Gurke), protiv kukaca *S. zeamais* i *Prostephanus truncatus* (Horn). Laboratorijski je ispitana aplikacija kontaktne toksičnosti, tretiranjem zrna i testovima repelentnosti. Svaki sastojak apliciran lokalno ili putem impregnacije na cijela zrna kukuruza bio je visoko toksičan za obje vrste kukaca. Njihov mortalitet ovisio je o koncentraciji. Zrna tretirana svakim sastojkom bila su visoko toksična pri najnižim koncentracijama od 0.5 μl ili mg kg^{-1} zrna sa 100%-tnim mortalitetom svih vrsta kukaca tijekom 24 sata. U tretiranom zrnu razvoj jajašaca i ličinki u unutrašnjosti zrna, kao i pojava potomstva bila je u potpunosti inhibirana. Kamfor i eugenol bili su također visoko repelentni za kukce, u rasponu od 80-100%. Nakon 24 sata ekspozicije pokazao se značajan gubitak toksičnosti. Miješanje svakog sastojka s biljnim uljima (kokosov orah, suncokret, sezam ili muškati) pojačalo je toksičnost i zadržalo njegovo djelovanje 90 dana nakon tretmana. Godinu dana kasnije autori Obeng-Ofori i Reichmuth, (1999) testirali su toksičnost biljnih ulja kokosa, suncokreta, sezama i gorušice pojedinačno i u kombinaciji s 1,8-cineolom, eugenolom i kamforom na *S. granarius*, *S. zeamais*, *T. castaneum* i *P. truncatus*. I u ovom radu je potvrđeno da je kombinacija jestivih ulja i komponenta eteričnih ulja imala veću učinkovitost na testirane štetnike.

Znanstvenici Huang i Ho (1998) kroz detaljna istraživanja utvrdili su da cimet-aldehid, ekstrakt začina cimeta, može biti potencijalno sredstvo za zaštitu žitarica radi svoje kombinacije kontaktnog, fumigantnog i protu-izjedajućeg djelovanja protiv dvije vrste skladišnih štetnika, *T. castaneum* i *S. zeamais*. Fumigantna toksičnost cimet-aldehida bila je jače izražena kod imaga vrste *T. castaneum* nego kod *S. zeamais*. Osim toga, imaga obje vrste su bili osjetljiviji u odnosu na ličinke *T. castaneum*, koje su starošću postajale manje osjetljive na ekstrakt cimeta. Pri nižim koncentracijama cimet-aldehid nije imao protu-

izjedajući učinak za imaga *T. castaneum*, no pri višim koncentracijama značajno je smanjio stopu rasta, konverziju ishrane ličinki iste vrste. Za *S. zeamais*, cimet-aldehid je značajno smanjio potrošnju hrane, ali nije imao značajniji utjecaj na stopu rasta i konverziju ishrane ličinki iste vrste. Autori sugeriraju da je potrebno provesti i istraživanja koja bi polučila rješenje za uklanjanje mirisa cimeta zaostalog u uskladištenoj robi.

U potrazi za novim alternativama za dezinfekciju uskladištene robe, znanstvenici Tunç et al., 1997, otkrivaju da su pare acetona toksične za štetnike uskladištenih proizvoda. Aceton je metabolički proizvod živih organizama, biljaka i životinja, uključujući i kukce. Osim što je bezopasan za okoliš, acetonom je ostvaren 100%-tni mortalitet, s dozom od 123 μl acetona l^{-1} zraka u 1-3 dana za *T. confusum* (odrasle i jajašca), te za *Ephestia kuehniella* (Zeller) (gusjenice i jajašca).

Znanstvenici Dunkel and Sears (1998) su opisali fumigantna svojstva komponenata 1,8-cineola i kamfora, ekstrahiranih iz lišća biljke *Artemisia tridentata* Nutt. ssp. *vaseyana* (Rydb.), koja se pokazala kao dobra alternativa metil-bromida u zaštiti uskladištenih žitarica, skladišta i fumigacije prostora, kako navode isti autori. Kombinacija terpena je rezultirala 100%-tnim mortalitetom imaga *R. dominica* i jajašaca bakrenastog moljca *Plodia interpunctella* (Hübner) tijekom 24 sata ekspozicije.

Kurkuma (*Curcuma longa* L.) je još jedna biljna vrsta u nizu koja se pokazala kao vrijedan izvor insekticidnih komponenti za skladišne štetnike. Inače ova je biljka, uobičajeno korištena kao začim, poznata i po svojim ljekovitim vrijednostima u indijskoj tradicionalnoj medicini koja se koristi kao lijek za nekoliko lakših oboljenja (Srimal, 1997). Osim toga, postoji veliki broj istraživanja u kojem je dokazano da ova biljka ima insekticidan učinak za skladišne štetnike. Eterično ulje ekstrahirano iz rizoma kurkume sadrži α -tumeron, β -tumeron i ar-tumeron, dok ulje iz lišća sadrži α -felandren (18,2%), 1,8-cineol (14,2%) i p-cimen (13,3%) kao glavne komponente (Sharma et al, 1997). Eterično ulje iz zelenog lišća *Curcuma longa* L. sadrži 82,9% monoterpena, dok ulje iz zelenih rizoma samo 16,3% (McCarron et al, 1995). Vidljivo je da je lišće kurkume vrijedno detaljnijih istraživanja bioaktivnosti na štetnike.

Tako su autori Tripathi et al. (2002) ispitali toksičnost i repelentnost eteričnog ulja iz lista kurkume, te utjecaj na ovipoziciju i smanjenje populacije tri skladišna štetnika (*R. dominica*, *S. oryzae* i *T. castaneum*). Ulje je djelovalo insekticidno i u kontaktnoj i u fumigantnoj primjeni, s tim da su u kontaktnoj primjeni najosjetljivija bila imaga vrste *R. dominica*, a u fumigantnoj imaga *S. oryzae*. Nadalje, kod kestenjastog brašnara *T. castaneum*, ulje kurkume je reduciralo ovipoziciju za 72% i preživljenje jajašaca za 80%, pri koncentraciji od 5,2 mg cm^{-2} . Također, potpuno je zaustavljen razvoj potomstva kod

sve tri testirane vrste štetnika pri 40,5 mg g⁻¹ hrane, a pri najvišoj testiranoj dozi 213,15 mg g⁻¹ hrane postignuta je repelentnost od 81% također za sve testirane vrste štetnika.

Huang i suradnici (2002) utvrdili su da benzenski derivati eteričnih ulja posjeduju insekticidan i protu-izjedajući utjecaj na dva skladišna kukca, *S. zeamais* i *T. castaneum*. Svoja dosadašnja istraživanja na ova dva štetnika željeli su proširiti testiranjem toksičnosti eugenola, izoeugenola i metil-eugenola, pojedinačno i u kombinaciji s piretroidnim insekticidom, deltametrimom. Također su ispitali utjecaj ovih derivata na ishranu kukaca. Sva tri derivata pokazala su sličnu kontaktnu toksičnost na žiška (LD₅₀ vrijednosti iznosile su približno 30 μg mg⁻¹ mase kukca). Za brašnara, usporedbom vrijednosti LD₅₀ toksičnost derivata se može poredati slijedom izoeugenol > eugenol > metileugenol. Također je utvrđeno *S. zeamais* bio osjetljiviji nego *T. castaneum* na sva tri derivata, osim za isoeugenol prema vrijednostima LD₅₀. Subletalne koncentracije eugenola, izoeugenola i metil-eugenola povećale su toksičnost deltametrina na obje vrste testiranih kukaca. Stoga, autori zaključuju da se ova kombinacija može iskoristiti za smanjenje koncentracije deltametrina, a istovremeno ostvariti učinkovito suzbijanje kukaca. Učinkovitost ovakve kombinacije izražena je obostranim toksičnim učinkom i činjenicom da primijenjeni derivati narušavaju normalnu ishranu kukaca te ih na taj način oslabljuju i čine osjetljivijim za insekticide.

Sjeme leguminoza sadrži široki raspon kemijskih spojeva s toksičnim i repelentnim djelovanjem na štetne kukce (Harborne et al, 1971). Postoji više komponenata u brašnu graška (*Pisum sativum* L.) s visokim sadržajem proteina (polipeptida, lizolecitina, sojasaponina) koji su toksični za *S. oryzae* (Taylor et al, 2004).

Fields (2006) je proučavao učinak komercijalno dostupnog proteina, iz graška *P. sativum* L. na preživljavanje skladišnih štetnika. U radu su korištene dvije frakcije, brašno graška pomiješano sa sjemenom pšenice i brašno graška pomiješano s pšeničnim brašnom. Kod prve frakcije, najosjetljivija vrsta je bila *S. oryzae*, *S. zeamais* i *S. granarius*, slijedi vrsta *C. ferrugineus* koja je bila senzibilnija od *T. castaneum* i *R. dominica*. Kod druge frakcije najosjetljivija je bila vrsta *Cryptolestes pusillus* (Schönherr), slijede vrste *Cryptolestes turcicus* (Grouvelle) i *T. confusum*, a najotporniji je bio *T. castaneum*. Brašno graška s visokim sadržajem proteina nije imalo značajno visoki letalni učinak na stadij imaga testiranih štetnika, no značajno je djelovalo na smanjenje njihova potomstva. I ovdje je najosjetljivija vrsta bila *C. pusillus*, potom vrsta *T. confusum*, dok je najotpornija bila vrsta *T. castaneum*.

Na 9. Internacionalnoj radnoj konferenciji o zaštiti uskladištenih proizvoda, koja se održala 2006. godine u Brazilu, Campinas, Sao Paulo (9th International Working Conference on Stored Product Protection - IWCSPP), veliki broj znanstvenika objavio je rezultate istraživanja s alternativnim botaničkim insekticidima u zaštiti uskladištenih žitarica. Tako su autori Potenza, et al., (2006) ispitivali kontaktnu toksičnost acetonskih i vodenih ekstrakata nekoliko biljnih vrsta na *S. zeamais*. Također, na istoj konferenciji autori Pinto Junior et al. (2006) iznijeli su studiju o procjeni djelovanja eteričnog ulja različitih biljaka (atraktivnost, repelentnost i mortalitet) na *S. zeamais*. Autori su koristili pare eteričnog ulja biljke eukaliptusa *Eucalyptus sp.*, sasafra, lovor vrste *Ocotea odorifera* (Vell.), biljke indijskog muškarnog oraščića *A. indica* i citronele *Cymbopogon nardus* u pet koncentracija. Eterična ulja biljaka sasafra i citronele pokazale su najbolji potencijal u repelentnosti, kao i najveći mortalitet. Ulje indijskog muškarnog oraščića imalo je potencijalnu repelentnost, ali nije uzrokovao i mortalitet, dok je ulje eukaliptusa imalo nisku repelentnost, a mortalitet samo pri najvišim koncentracijama.

Autori Rozman, et al. (2006) utvrdili su bioaktivnost 1,8-cineola, kamfora i karvakrola protiv *S. zeamais* u laboratorijskim uvjetima i u skladištima. Laboratorijski test fumigacije od 7 dana u 5 koncentracija pokazao je 100% mortalitet s 1,8-cineolom i kamforom, čak i kod najnižih koncentracija, dok je karvakrol imao 100% mortalitet pri 10 μl 720 ml^{-1} vol. U skladišnim uvjetima tijekom ekspozicije od 24 dana i doze od 200 ml 5 kg^{-1} pšenice, 100% mortalitet postignut je u 16 dana s 1,8-cineolom, s kamforom u 24 dana, dok je karvakrol na kraju ispitivanja postigao mortalitet od 65%.

Testirana je fumigantna toksičnost eteričnog ulja destiliranog iz biljke *Artemisia sieberi* (Besser), široko rasprostranjene na području Irana, na tri skladišna štetnika (Negahban et al., 2007). Autori navode da se mortalitet imaga vrsta *C. maculatus*, *S. oryzae* i *T. castaneum* povećao s porastom koncentracija od 37 do 926 $\mu\text{l L}^{-1}$ i s vremenom ekspozicije od 3 do 24 sata. Najniža koncentracija pri ekspoziciji od 24h bila je dovoljna da se postigne 100% -tni mortalitet za sve ispitivane štetnike.

Fumigacija predstavlja važan postupak zaštite uskladištenih proizvoda od štetnika. Na 8. Međunarodnoj konferenciji o kontroliranoj atmosferi i fumigaciji uskladištenih proizvoda održanoj u Kini 2008. godine (8th International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Product – CAF 2008) raspravljalo se o novinama u fumigaciji, a među brojnim znanstvenicima bilo je i onih koji su svoje istraživanje usmjerili na ispitivanje fumigantne učinkovitosti brojnih biljnih preparata i njihovih aktivnih komponenata. Tako su autori Akinkurolere et al. (2008) ispitali insekticidna

svojstva biljaka *Eugenia aromatica* (L.), *Denettia tripetala* (Bak. F.) i *Piper guineense* (Schum and Thonn) u suzbijanju skladišnih štetnika *Callosobruchus maculatus* (Fab.), *T. castaneum*, *S. zeamais*, *Oryzaephilus mercator* (Fauvel) i *L. serricorne*, te su utvrdili da prašiva ovih biljaka imaju toksične bioaktivne komponente protiv ispitivanih štetnika, te bi mogli poslužiti kao dobra zamjena za sintetičke fumigante kao što je metil-bromid. Na istoj konferenciji skupina autora Yujie L. et al. (2008) iznosi rezultate svojih istraživanja koji ukazuju da je alicin visoke toksičnosti na *T. castaneum*, *O. surinamensis* i *C. ferrugineus*. Tijekom tri dana ekspozicije s alicinom na imaga postignut je LC₅₀ od 0,68; 0,86 i 0,99 µl l⁻¹ vol., dok je letalna koncentracija (LC₅₀) za ličinke istih štetnika bila 0,11; 0,12 i 0,35 µl l⁻¹ vol., ukazujući da su ličinke osjetljivije na alicin u odnosu na imaga.

Biljni ekstrakti iz 57 vrsta koje pripadaju 21 različitoj botaničkoj porodici s područja jugoistočne Španjolske, testirani su na toksičnost kukaca vrste *T. castaneum* (Pascual-Villalobos and Robledo, 1999). Deset od ukupno 57 testiranih biljnih vrsta pokazalo je toksičnost u većini tretmana. Biljna vrsta *Ballota hirsuta* (Benth.), djelovala je na inhibiciju rasta u stadiju ličinke ispitivanog štetnika. Sto postotni mortalitet kukuljica, imale su tri biljne vrste (*Ononix natrix* (L.), *Lavatera cretica* (L.) i *Urginea maritima* (L.). Autori su zaključili da biljne vrste iz porodice glavočika *Compositae* imaju tendenciju inhibicije rasta *T. castaneum* (sa i bez mortaliteta) ili djeluju repelentno na ispitivanog štetnika.

Na kestenjastom brašнару, provedena su ispitivanja toksičnosti sjemena četiri biljne vrste koje se tradicionalno koriste u medicini na području Maroka (Jbilou et al, 2006). Ekstrakti biljnih vrsta pomiješani s hranom, značajno su utjecali na inhibiciju rasta ličinki *T. castaneum*. Dobru insekticidnu aktivnost na ličinke i imaga kestenjastog brašnara imali su ekstrakti sjemena biljne vrste *Peganum harmala* (*Zygophyllaceae*), zatim *Ajuga iva* (*Labiatae*), *Aristolochia baetica* (*Aristolochiaceae*) i vrste *Raphanus raphanistrum* (*Brassicaceae*). Ekstrakti ove četiri biljne vrste poremetili su razvojni ciklus štetnika, tako što je produženo ili reducirano trajanje zadnjeg stadija ličinki. Također autori su naglasili da su tri biljne vrste (*P. harmala*, *A. iva* i *A. baetica*) inhibirale F1 potomstvo testiranog kukca.

Autori iz Bangladeša (Mondal and Khalequzzaman, 2010) objavljuju rad u kojem iznose rezultate testiranja kontaktne i fumigantne toksičnosti četiri komponente (trans-anetola, timola, eugenola i cinamaldehyda) eteričnih ulja ispitivanih na odraslim stadijima i ličinkama (10 i 18 dana starosti) *T. castaneum*. Najosjetljiviji stadij bile su ličinke starosti 10 dana, te odrasli brašnari. Starije ličinke pokazale su visoku tolerantnost na ispitivane

komponente. Autori ističu da su komponente cinamaldehyd i eugenol, aplicirane u najnižim koncentracijama pri ekspoziciji od 48 sati, bile vrlo učinkovite protiv kestenjastog brašnara.

Španjolski znanstvenici testirali su toksičnost komponenti eteričnih ulja korijandra, kima i bosiljka na štetnike uskladištene riže (Lopez et al, 2008). Analizom pomoću GC-MS, utvrđeno je da korijandar sadrži linalol, kao glavnu aktivnu komponentu za sve ispitivane vrste (*S. oryzae*, *R. dominica* i *C. pusillus*). Frakcije bogate kamforom, bile su vrlo toksične za *R. dominica* i *C. pusillus*. Komponenta karvon iz eteričnog ulja kima bila je najučinkovitija za *S. oryzae*.

Dvije godine kasnije, isti autori izdaju rad u kojem iznose rezultate istraživanja na selekciji tri skladišna štetnika prema tolerantnosti na pare 8 monoterpena (linalol, kamfor, γ -terpinen, *S*-karvon, geraniol, *E*-anetol i fenhon), kao i njihov utjecaj na metabolizam kukaca (Lopez et al, 2010a). Autori zaključuju da se rezistentnost kukaca na neke monoterpene razvija vrlo sporo, tek nakon sedme generacije ispitivanih štetnika.

Testirana je fumigantna toksičnost eteričnog ulja biljke *Cymbopogon pendulus* (Nees ex. Steud.) Wats. Cv. Praman na skladište gljivice i štetnike (*Aspergillus flavus*, *Penicillium italicum*, *R. dominica*, *T. castaneum* i *T. granarium*) u uskladištenoj robi (Shukla, 2009). Uspoređujući dobivene rezultate, autor iznosi prilično ohrabrujuće zaključke. Kada se uzme u obzir fitotoksičnost (nije štetno za uskladišteno sjeme), široki pesticidni spektar djelovanja (toksičan za štetne gljivice i kukce), rezultati organoleptičkih testova, farmakološka ispitivanja (neškodljivo za ljudsko zdravlje), kao i usporedne karakteristike s nekim sintetičkim fumigantima, eterično ulje biljke *C. pendulus* pokazalo je superiornost.

Skupina iranskih znanstvenika (Moharrampour et al., 2009) ispitala je repelentnu aktivnost i perzistentnost eteričnog ulja iz ljekovite biljke *Prangos acaulis* (Dc.) Bornm na tri skladišna štetnika, *T. castaneum*, *S. oryzae* i *C. maculatus*. Sve primjenjene koncentracije djelovale su repelentno, i to od 41,2% do 83,6% ovisno o koncentraciji i vrsti štetnika. Veća učinkovitost ulja postignuta je kod *S. oryzae* i *C. maculatus*. Stabilnost eteričnog ulja je bila konstantna za sve tri ispitivane vrste.

Slijedeće godine, autori (Saroukolai et al., 2010) objavljuju rad u kojem iznose rezultate testiranja eteričnog ulja biljke *Thymus persicus* (Ronniger ex. Rech. f.) na imaga *T. castaneum* i *S. oryzae*. Fumigantna toksičnost se povećavala s povećanjem koncentracije ulja. Vrijednosti LD₅₀ pri najnižim i najvišim koncentracijama rangirane su od 28,09 do 13,47 sati za *T. castaneum*, te od 3,86 do 2,3 sati za *S. oryzae*. Imaga vrste *S. oryzae* su bila osjetljivija na eterično ulje *T. persicus* u odnosu na vrstu *T. castaneum*.

Na Zavodu za zaštitu bilja u Iranu rade se istraživanja fumigantne toksičnosti eteričnih ulja biljnih vrsta *Lavandula officinalis* L., *Artemisia dracunculus* L. i *Heracleum persicum* Desf. na stadij imaga *C. maculatus* (Manzoomi et al, 2010). Prema rezultatima, mortalitet se povećao s povećanjem doze i vremenom ekspozicije. Toksičnost ulja lavande bila je viša u odnosu na ulja preostale dvije biljne vrste (s vrijednosti $LD_{50} = 41,52 \mu\text{l L}^{-1}$), iako su eterična ulja sve tri biljke bile učinkovite u kontroli imaga ispitivanog štetnika.

Brazilski znanstvenici (Moreira et al, 2007) radili su istraživanje na 8 različitih biljnih vrsta s insekticidnim djelovanjem, kako bi izolirali, identificirali i procijenili bioaktivnost insekticidnih komponenti koje su u sastavu biljnih vrsta: *Ocimum selloi* Benth., *Ruta graveolens* L., *Leonotis nepetifolia* L., *Datura stramonium* L., *Cordia verbenacea* L., *Mentha piperita* L., *Marmodica charantia* L. i vrsta *Ageratum conyzoides* L. Autori zaključuju da je samo heksan ekstrakt biljke *A. conyzoides* djelovao toksično na ispitivane vrste štetnika: *S. zeamais*, *R. dominica* i *O. surinamensis*, dok je kumarin, ekstrahiran iz iste biljne vrste pokazao vrlo visoku toksičnost na ispitivane štetnike. Od sve tri testirane vrste, na kumarin je najosjetljiviji bio *O. surinamensis*, potom *S. zeamais* i *R. dominica*.

Ispitana je bioaktivnost komponenata eteričnih ulja ekstrahirana iz tri biljne vrste: limunske trave (*Cymbopogon citratus* DC ex Nees Stapf.), muškarnog oraščića (*Monodora myristica* Dunal) i đumbira (*Zingiber officinale* Roscoe) (Owolabi et al, 2009). Kontaktna toksičnost eteričnih ulja, ispitana na stadiju odraslih *S. zeamais* i *C. maculatus*, ovisila je o koncentraciji. Tako je ulje biljke *M. myristica* bilo vrlo toksično s LD_{50} vrijednostima od 0,346 za odrasle *C. maculatus*, dok je ulje *C. citratus* bilo vrlo toksično s LD_{50} vrijednostima od 0,560 za *S. zeamais*. Prema učinkovitosti ulja se mogu poredati *C. citratus* > *M. myristica* > *Z. officinale*.

Ispitana je kontaktna i fumigantna toksičnost 11 monoterpena na dva skladišna štetnika *S. oryzae* i *T. castaneum* (Abdelgaleil et al., 2009). U kontaktnoj toksičnosti na *S. oryzae* najbolju učinkovitost polučili su (-)-karvon, geraniol i kuminaldehid. Za *T. castaneum* najučinkovitiji su monoterpeni (-)-karvon i kuminaldehid. Kao najbolji potencijalni fumigant se pokazao 1,8-cineol i za *T. castaneum* ($LD_{50} = 14,19 \text{ mg L}^{-1}$) i za *S. oryzae* ($LD_{50} = 17,16 \text{ mg L}^{-1}$).

Aromatična biljka *Ocimum gratissimum* L., podrijetlom iz Kenije, pored svojih ljekovitih svojstava, cijenjena je po fumigantnom i repelentnom utjecaju na različite štetne vrste (Murugan et al, 2007). Ispitana je bioaktivnost eteričnoga ulja ove biljke kao i njenih komponenata (eugenol i β -(Z)-ocimene) u kontroli pet vrsta skladišnih štetnika, *S. oryzae*, *T. castaneum*, *O. surinamensis*, *R. dominica* i *C. chinensis* (Ogendo et al, 2008). U testu

ispitivanja fumigantne toksičnosti ulje i aromatične komponente pokazale su toksičnost koja je bila specifična za vrstu kukca, te je značajno ovisila o koncentraciji i vremenu ekspozicije. Ulje i komponenta eugenol su postigli mortalitet od 50% pri koncentracijama od 0,01-17 μL^{-1} zraka 24 sata nakon tretmana za sve ispitivane kukce, osim za *T. castaneum*. Ova razlika u osjetljivost određenih vrsta kukaca na eterična ulja i njihove komponente može se pripisati dijelom međuodnosom komponenata i njihove aktivnosti, a dijelom fiziološko-strukturalnim promjenama stanica kukaca rezultirajući njihovim otrovanjem blokirajući receptore oktopamina (Enan, 2004; Priestley et al, 2006). Nadalje, u testiranju repelentnosti, i ulje i eugenol pokazali su snažnu repelentnost za sve četiri ispitivane vrste, oviseći o dozi i vremenu ekspozicije. Najviši postoci repelentnosti postignuti su kod *S. oryzae* (85%-100%) i kod *T. castaneum* (37,5%-100%).

1.1.1. Toksičnost eteričnih ulja na niže razvojne stadije štetnika

Kako su istraživanja esencijalnih ulja usmjerena na njihovu učinkovitost za suzbijanje skladišnih štetnika, postavlja se pitanje da li su učinkovita i za niže razvojne stadije, jednako kao i za odrasle oblike kukaca. Opće je poznato kako dijapauza u kukaca služi kao mehanizam za preživljavanje tijekom nepovoljnih životnih uvjeta, te im upravo ovo svojstvo omogućuje veću otpornost u odnosu na kukce koji nemaju ovaj stadij. Također je poznata i visoka tolerantnost kukuljica na toksične tvari i druge mjere koje se primjenjuju u zaštiti uskladištenih proizvoda (Bell, 1994).

Senzibilnost jajašaca i kukuljica na eterična ulja zahtjeva dodatna istraživanja, jer je utvrđeno da ovi stadiji razvijaju veću tolerantnost na kemijske reagense, primjerice na fosfin, u usporedbi s aktivnim stadijima (Bell, 1978). Stoga neki od njih nastavljaju razvoj i tijekom perioda fumigacije. To može rezultirati i njihovim uništenjem, ukoliko razviju senzibilniji stadij u vrijeme ekspozicije sredstva. Što se tiče primjene fosfina, postoji preporučeno vrijeme ekspozicije kako bi se prekoračilo trajanje tolerantnih stadija na određenoj temperaturi. Neadekvatna ekspozicija može rezultirati primjenom visokih koncentracija koje ne daju uspješne rezultate za kontrolu tolerantnih stadija kukaca.

Općenito, velika većina istraživanja toksičnosti esencijalnih ulja i njihovih aktivnih komponenti usmjerena je na aplikaciju poslije-embrionskih stadija, a manje na fumigantnu toksičnost ulja na jajašca skladišnih štetnika (Risha et al., 1990; Don-Pedro, 1996, Rahman and Schmidt, 1999).

Malo je studija koje se bave utjecajem na starost jajašaca kao i na njihovu senzibilnost, iako je utvrđeno da je upravo starost jajašaca odgovorna za njihovu osjetljivost na

konvencionalne insekticide i fumigante (Smith and Salkeld, 1996; Michaelides and Wright, 1997; Bell and Savvidou, 1999).

Varijacije u učinkovitosti esencijalnih ulja izdvojenih iz nekoliko biljnih vrsta (anis, kim, origano, eukaliptus i ružmarin) obzirom na različite stadije kukaca (*T. confusum* i *E. kuehniella*) utvrdili su i znanstvenici Tunç, et al., 2000. Ekspozicijom jajašaca ispitivanih vrsta štetnika parama eteričnih ulja anisa i kima rezultiralo je 100% -tnim mortalitetom. Uljem origana postignuti su mortaliteti od 77% kod *T. confusum*, te 89% kod *E. kuehniella*. Iz rezultata autori zaključuju da su jajašca vrste *T. confusum* tolerantnija na eterično ulje anisa u odnosu na odrasle jedinke ove vrste.

Utvrđen je i ovicidni učinak ulja biljke kardamom (*Elletaria cardamomum* L.) na jajašca dva skladišna štetnika *S. zeamays* i *T. castaneum* (Huang et al., 2000). Naime, izlijeganje ličinki iz tretiranih jajašaca kod *T. castaneum* smanjeno je za 60%, čime je smanjen i broj razvijenih imaga. Autori navode i to da u potomstvu koje se razvilo iz tretiranih jajašaca nije bilo razvojnih deformacija. Pojava potomstva obje vrste totalno je zaustavljena pri koncentraciji od $5,3 \times 10^3$ ppm ulja *E. cardamomum*.

Grčki znanstvenici Papachristos i Stamopoulos, (2002) testirali su fumigantnu učinkovitost eteričnih ulja biljaka lavande, ružmarina i eukaliptusa na niže stadije grahovog žiška *Acanthoscelides obtectus* (Say), istovremeno ispitujući i odnos između perioda aplikacije ulja i mortaliteta, kao i odnos temperature i mortaliteta. Tako su utvrdili da su pare eteričnih ulja toksične na sve ispitivane stadije, s tim da su ličinke sa starošću postale progresivno tolerantnije, ali u odnosu na kukuljice su bile osjetljivije. Također su utvrdili da su pare eteričnih ulja bile učinkovitije na temperaturama 10°C i 18°C, nego na 4°C, 26°C, 32 °C i 36°C. Godinu dana poslije (2003), isti autori objavljuju rad u kojem su proširili svoja saznanja o toksičnosti para eteričnih ulja na jajašca grahovog žiška, utvrdivši da toksičnost značajno varira sa starošću jajašaca. Stoga predlažu, u praktične svrhe, produžiti period ekspozicije ulja kako bi se premostila tolerantna faza mlađih jajašaca.

Autori Stamopoulos et al. (2007) svojim istraživanjima dali su doprinos u pojašnjenju toksičnog utjecaja monoterpena na skladišne štetnike. Naime, testirali su pare pet monoterpena (terpinen-4, 1,8-cineol, linalol, *R*-(+)-limonen i geraniol) na različite stadije i starosti malog brašnara *T. confusum*, kao i utjecaj na reprodukciju i preživljenje jajašaca. Općenito najbolju učinkovitost imao je terpinen-4-ol, zatim *R*-(+)-limonen, 1,8-cineol, linalol, a najslabije je djelovao geraniol. U svim slučajevima, osim kod geraniola, najosjetljivije su bile ličinke trećeg stadija, a najtolerantnija jajašca starosti tri dana. Pored ispitivanja direktne toksičnosti, autori su utvrdili da su ženke nakon ekspozicije parama imale nižu reprodukciju, a jajašca su bila slabije otporna. Svi testirani monoterpeni

pokazali su slično djelovanje kao i regulatori rasta kukaca, aplicirani na tri dana starim kukuljicama, stvarajući „adultoid“ jedinke i deformirana imaga.

Postoji nekoliko objašnjenja zašto su jajašca najotporniji stadij. Grčki znanstvenici (Papachristos and Stamopoulos, 2004) iznose dva razloga. Kao prvo, poznato je da monoterpeni djeluju kao neurotoksini. Stoga, njihova aktivnost na jajašca će doći do izražaja tek kada embrij počne razvijati živčani sustav. Kao drugo, na početku embriogeneze, propusnost vanjske ovojnice jajašca za plinove je niža, te upravo to ometa difuziju para u mlađa jajašca. Također ovim objašnjenjima može se pridružiti i činjenica da je respiratorna snaga jajašaca znatno manja u odnosu na aktivne stadije, pa je i niži stupanj izmjene zraka (para monoterpena) u jajašcima (Emekci et al., 2002).

Ispitujući toksičnost para četiri eterična ulja, Isikber et al. (2009) ustanovili su različitu osjetljivost jajašaca ovisno o vrsti štetnika i apliciranog ulja. Općenito, eterična ulje bijelog luka i breze su pokazala veću toksičnost u odnosu na eterična ulja cimeta i anisa. Ovisno o vrsti štetnika, najosjetljivija su jajašca vrste *T. confusum*, dok su najotpornija jajašca vrste moljca *P. interpunctella*.

Da postoje razlike u osjetljivosti pojedinih stadija štetnika na aplicirana ulja, dokazali su i autori Tripathi et al. (2001). Naime, u istom radu dokazano je da su 14 dana stare ličinke kestenjastog brašnara *T. castaneum* tolerantnije nego imago i ličinke starosti 16 i 18 dana, na kontaktnu primjenu 1,8-cineola. U fumigantnoj primjeni, sve ličinke (14-18 dana starosti) su bile tolerantnije od imaga, dok je osjetljivost između pojedinih uzrasta ličinki bila približno jednaka.

Kasnije, isti autori ispitivanjem kontaktne i fumigantne toksičnosti, ovicidnog učinka kao i polaganja jaja, utvrđuju da d-limonen također može biti učinkovit u suzbijanju populacije kukaca skladišnih proizvoda (Tripathi et al., 2003).

Wang et al. (2006), su ispitali utjecaj ulja biljke *Artemisia vulgaris* (L.) na repelentnost i fumigantnu toksičnost imaga i nižih razvojnih stadija *T. castaneum*. Ulje je imalo visoku fumigantnu učinkovitost na imaga i ličinke, s tim da su imaga bila osjetljivija u odnosu na ličinke. Autori iznose da je pri $8,0 \mu\text{l ml}^{-1}$ postignut 100%-tni mortalitet odraslih, a za ličinke starosti 12-, 14- i 16-dana postignuti su mortaliteti od 49%, 53% i 52%, tim slijedom. Testirano ulje je također imalo visoku fumigantnu toksičnost i na jajašca. Osim toga, ulje *A. vulgaris* ima fumigantni učinak na razvoj *T. castaneum*. Naime, značajno je smanjen postotak ličinki koje su prešle u stadij kukuljice, kao i kukuljice koje su dostigle stadij imaga. Kako eterično ulje ima vrlo dobru fumigantnu toksičnost za sve razvojne stadije brašnara, a naročito za jajašca, autori naglašavaju kako je vrijedno utvrditi najaktivniju komponentu, te ispitati interakciju pojedinih komponenti ulja biljke *A. vulgaris*.

Liu et al. (1999) testirali su bioaktivnost eteričnog ulja biljke *Evodia rutaecarpa* Hook f. et Thomas na imaga *S. zeamais*, te imaga i ličinki vrste *T. castaneum*. Inače ova biljna vrsta, raširena uglavnom na području jugozapadne Kine, koristi se kao ljekovita biljka za liječenje bolesti jetre, bubrega, slezene i želuca (Bensky et al, 1986). Autori su utvrdili da *E. rutaecarpa* posjeduje kontaktnu i fumigantnu toksičnost, kao i repelentnost te u manjoj mjeri protu-izjedajući učinak za obje vrste štetnika i oba ispitivana stadija. Imaga *S. zeamais* su bile osjetljivije na kontaktnu primjenu ulja u odnosu na imaga *T. castaneum*, s tim da su ličinke *T. castaneum* starosti 16 dana bile nešto tolerantnije u odnosu na imaga, naročito prema vrijednostima LD₉₅. Što se pak fumigantne toksičnosti tiče, *S. zeamais* je pokazao manju osjetljivost (LD₅₀=41 µg l⁻¹ zraka) u odnosu na *T. castaneum* (LD₅₀=11,7 µg l⁻¹ zraka). U usporedbi s ličinkama različite starosti, imaga *T. castaneum* su osjetljiviji na fumigantnu primjenu eteričnog ulja. Također, 12 dana stare ličinke pokazale su jaču osjetljivost u odnosu na starije. Nadalje, eterično ulje *E. rutaecarpa* je repelentnije na *T. castaneum* nego na *S. zeamais*. Što se tiče protu-izjedajućeg djelovanja, ulje je imalo slabiji učinak na imaga *T. castaneum* u odnosu na ličinke *T. castaneum* i imaga *S. zeamais*. Vidljivo je da ulje *E. rutaecarpa* posjeduje višestruko biotoksično djelovanje na dva značajna skladišna štetnika, stoga autori ukazuju na značajnost izoliranja i identificiranja bioaktivnih komponenti ovoga eteričnog ulja kako bi se njegov potencijal mogao aplicirati i u potpunosti iskoristiti za kontrolu skladišnih štetnika.

Među terpenima, 1,8-cineol deriviran iz eteričnih ulja biljaka iz porodica *Eucalyptus*, *Lavandula*, *Mentha*, *Ocimum* i *Rosmarinus*, te iz biljke *P. anisum* (Shaaya et al., 1991), pokazao je značajnu fumigantnu učinkovitost (Rajendran and Sriranjini, 2008). Potonji autori radili su istraživanje biljnih eteričnih ulja i njihovih komponenata na skladišne štetnike *T. castaneum*, *R. dominica*, *S. oryzae* i *S. zeamais*. Općenito, imaga su bila osjetljivija, dok su jajašca bila ili tolerantna ili visoko osjetljiva ovisno o vrsti štetnika i tipu eteričnog ulja, odnosno komponente ulja. Ispitivana eterična ulja su se pokazala učinkovitim u kombinaciji s CO₂ ili etilnim formatom.

Testirana je toksičnost i protu-izjedajući učinak alil disulfida, komponente bijelog luka *Allium sativum* L., na stadije odraslih i ličinki *T. castaneum*, te na stadij odraslih *S. zeamais* (Chiam et al, 1999). U kontaktnoj primijeni alil disulfida je bio tri puta toksičniji za odrasle *T. castaneum* u odnosu na odrasle *S. zeamais*, a u fumigantnoj primijeni 5 puta. Ličinke *T. castaneum* su na oba testa bile tolerantnije nego odrasli. Iz tretiranih jajašaca smanjen je broj ispiljenih ličinki kao i pojava potomstva.

Toksičnost eteričnog ulja bijelog luka također je bilo područje istraživanja autora Huang et al. (2000a). Naime, ispitivane su dvije glavne komponente, metilalil-disulfid i dialil-trisulfid, te je utvrđena njihova kontaktna i fumigantna toksičnost i protu-izjedajući učinak protiv štetnika *S. zeamais* i *T. castaneum*. Utvrđeno je da su starije ličinke *T. castaneum* bile osjetljivije na kontaktnu toksičnost, a mlađe na fumigantnu toksičnost obje komponente. Odrasli *T. castaneum* su bili osjetljiviji od odraslih druge testirane vrste. Obje komponente su reducirale izlijeganje ličinki *T. castaneum* čime je smanjen i broj potomstva, s tim da je dialil trisulfid u potpunosti spriječio izlijeganje pri 0,32 mg cm⁻², te nastanak ličinki i odraslih pri koncentraciji od 0,08 mg cm⁻².

Utvrđena je insekticidna aktivnost polarne i nepolarne frakcije biljke anis *Illicium verum* Hook. f., na odraslim i nižim razvojnim stadijima *T. castaneum* i odraslim jedinkama vrste *S. zeamais* (Ho et al., 1995). Sva jajašca *T. castaneum* su uništena pri 0,01 g ml⁻¹ ekstrakta. Imaga su pokazala veću osjetljivost u odnosu na ličinke, kao i mlađe ličinke u odnosu na starije. Što se tiče kukuruznog žiška, imaga su bila dvostruko tolerantnija na nepolarne ekstrakte u odnosu na imaga kestenjastog brašnara. Također nepolarni ekstrakti su u potpunosti suzbili proizvodnju F1 generacije kod oba štetnika.

Turski znanstvenici testirali su fumigantni učinak eteričnih ulja ružmarina *Rosmarinus officinalis* (L.) i lovora *Laurus nobilis* (L.) na sve stadije malog brašnara *T. confusum* (Isikber et al, 2006). Analize plinskog kromatografa i masenog spektrometra ukazale su da je 1,8-cineol glavna komponenta oba testirana ulja. Autori navode da su eterična ulja ružmarina i lovora toksična za sve stadije ispitivanog štetnika, ističući da je najrezistentniji stadij kod ulja ružmarina bio stadij kukuljice, dok je stadij imaga bio najrezistentniji kod ulja lovora.

Identificirana je glavna komponenta iz eteričnog ulja biljke *Alpinia calcarata* (Rosc.), 1,8-cineol, te je testirana njezina toksičnost na *C. maculatus* (Abeywickrama et al., 2006). Imaga *C. maculatus* su bila osjetljiva i na fumigantnu kao i na kontaktnu primjenu eteričnog ulja *A. calcarata* sa svim svojim komponentama, kao i na izdvojenu komponentu 1,8-cineol. Također njihovo djelovanje je značajno inhibiralo ovipoziciju i pojavu F1 potomstva ispitivanog štetnika. Ulje *A. calcarata* je imalo veći repelentni učinak na imaga u odnosu na 1,8-cineol.

Skupina znanstvenika utvrdila je da eterično ulja biljke *Coriandrum sativum* (L.) djeluje toksično i repelentno na ispitivane stadije (jajašca, ličinke i imaga) kestenjastog brašnara *T. castaneum* (Islam et al, 2009). Među stadijima, imaga su bila osjetljivija u odnosu na stadij ličinke, također najmlađe ličinke (12 dana) su bile tolerantnije u odnosu na starije (14 i 16 dana). Autori navode da je eterično ulje djelovalo inhibitorno na razvoj štetnika. Naime, ulje

C. sativum potpuno je inhibiralo metamorfozu ličinki u kukuljice i odrasle pri koncentraciji od $0,08 \mu\text{g ml}^{-1}$. Eterično ulje djelovalo je toksično i na jajašca brašnara, a s porastom ekspozicije i doze ulja, toksičnost se progresivno povećavala. Maksimalni mortalitet jajašaca postignut je s koncentracijom od $20 \mu\text{g ml}^{-1}$ i ekspozicijom od 96 sati. Pri najvišoj koncentraciji od $12 \mu\text{g ml}^{-1}$ postignuta je 100%-tna repelentnost kukaca *T. castaneum*. Autori navode da se bioaktivnost eteričnog ulja *C. sativum* može pripisati njegovim aktivnim komponentama Z-2-decenal, beta-ionin i eugenol koncentriranih u lišću ove biljke.

1.1.2. Mehanizam djelovanja eteričnih ulja na metabolizam kukaca

Kao što je vidljivo iz velikog broja radova, monoterpeni mogu biti alternativa sintetičkim insekticidima u kontroli skladišnih štetnika. Stoga je značajno proučiti mehanizam djelovanja ovih tvari na metabolizam kukaca.

Testiranje monoterpena na stadiju kukuljica otkrilo je još jedan način djelovanja ovih prirodnih tvari. Naime, toksičnost monoterpena ima sve karakteristike juvenilnih hormona rasta. Narušavanje procesa morfogeneze u stadiju kukuljice; pojava adultoid jedinki, kao i deformiranih imaga, upućuje na direktan utjecaj na hormonalni sustav kukaca, slično utjecaju regulatorima rasta kukaca (Bowers, 1969, Schwarz et al, 1970). Ovaj efekt uočen je još 1974. godine (Amos et al., 1974) prilikom miješanja različitih terpena u hranu kestenjastom brašнару *T. castaneum* i malom brašнару *T. confusum*. Također, sposobnost para monoterpena, naročito terpinen-4-ola i 1,8-cineola, da utječu na smanjenje reprodukcije i preživljenje položenih jajašaca, upućuje na analogna svojstva regulatora rasta kukaca.

Djelovanje eteričnih ulja na kukce može biti neurotoksično, sa simptomima sličnim onima koji nastaju pod utjecajem insekticida na bazi organofosfata i karbamata (Isman, 2000) ili inhibitorno na acetilkolin, izazivajući paralizu kukaca kako je i objavljeno u radovima na vrsti *T. castaneum* u kojima su rezultati istraživanja konstantno upućivali da su terpeni (pulegon, gossypol, citral, linalol, bornil-acetat i 1,8-cineol) paralizirali ili ubili ovog kukca (Ryan and Byrne, 1988). Zahvaljujući istraživanjima kemijskih reakcija između biljnih para i kukaca, monoterpeni su prvi biljni inhibitori za koje se smatralo da imaju karakteristike enzima acetilkolinesteraze (AChE). Tako je utvrđeno da ciklični terpen pulegon, dobiven iz ulja metvice, ima djelovanje kao i inhibitor AChE na *T. castaneum* (Houghton et al, 2006). Također je dokazano da je monoterpen 1,8-cineol izazvao značajnu inhibiciju ovog enzima (Picollo et al., 2008).

Godinu dana kasnije, autor Abdelgaleil et al. (2009), također navodi da se 1,8-cineol pokazao kao najbolji potencijalni inhibitor AChE ličinki kestenjastog brašnara *T. castaneum*, slijedeći (-)-karvon i (-)-limonen. Također, *in vitro*, je utvrđeno da je u odraslim jedinkama *S. oryzae* najbolju inhibiciju AChE imao kuminaldehide, zatim 1,8-cineol, (-)-limonen i (-)-fenhon.

Autori Lopez i Pascual-Villalobos (2010) ispitivali su inhibiciju aktivnosti AChE kao mogućeg mehanizma djelovanja 8 monoterpena (fenhon, *S*-karvon, linalol, γ -terpinen, geraniol, estragol, kamfor i-anetol) koji su imali visoki mortalitet na tri skladišna štetnika (*S. oryzae*, *R. dominica* i *C. pusillus*). Autori su utvrdili da je većina testiranih monoterpena inhibirala enzim AChE te da je inhibicija kod pojedinih monoterpena bila potpuna, reverzibilna ili kombinirana.

1.1.3. Prednosti i nedostaci eteričnih ulja u zaštiti poljoprivrednih proizvoda

Za razliku od sintetičkih insekticida, eterična ulja i njihove komponente imaju određene prednosti obzirom da se tradicionalno koriste u medicini, kao farmaceutski proizvodi, biljni napitci i/ili kao prirodni začini. Osim toga, niske su toksičnosti za sisavce. Proveden je manji broj istraživanja o utjecaju eteričnih ulja na prehrambene vrijednosti uskladištene robe i rezidue koje zaostaju u robi nakon njihove primjene. Tako su autori Singh et al. (1995) utvrdili da prehrambena vrijednost sirka nakon ekspozicije ulja *Mentha arvensis* L. pri koncentraciji od 167 $\mu\text{l L}^{-1}$ tijekom 3 mjeseca, nije bila narušena. Lee et al. (2003) su pak utvrdili da je fumigacija pšenice 1,8-cineolom rezultirala s 85 ppm rezidua 1 dan nakon aeracije, te s 62 ppm rezidua 6 dana nakon aeracije. Reološke karakteristike brašna dobivenog iz pšenice fumigirane kamforom, 1,8-cineolom i karvakrolom (200 ml kg^{-1} za 24 dana na 5-10°C) su ostale nepromijenjene, no primijećen je zaostali miris karvakrola u pšeničnom brašnu (Rozman et al., 2006).

Na 9. Internacionalnoj radnoj konferenciji o zaštiti uskladištenih proizvoda 2006. godine u Brazilu (9th International Working Conference on Stored Product Protection - IWCSP), izraelski znanstvenik Navarro (2006) dao je kratak osvrt o prednostima i nedostacima korištenja hlapivih eteričnih ulja biljnog podrijetla u zaštiti uskladištenih žitarica. Naime, testirani isparivi biljni ekstrakti imaju karakteristike eteričnih ulja s tipičnim aromatičnim mirisom biljaka iz kojih su ekstrahirani. Upravo radi njihove aromatične prirode, autor sugerira da bi biljni ekstrakti mogli imati primjenu u praznim prostorima ili robi u kojoj zaostali miris eteričnih ulja ne bi predstavljao ograničenje za njeno korištenje. Mnogi testovi s hlapljivim biljnim ekstraktima dokazali su njihovu učinkovitost kroz fumigaciju u

praznim prostorima. No, nedostaje im najvažnije svojstvo po kojem bi se svrstali u „idealne fumigante“, a to je dovoljan tlak para za difuziju i penetraciju unutar mase uskladištene robe za suzbijanje štetnika (Rajendran and Sriranjini, 2008). Stoga ovi autori, vjeruju da bi se biljni proizvodi mogli koristiti u zaštiti manje količine robe i fumigaciji praznih prostora.

Utvrđen je značajan utjecaj ispunjenosti prostora na učinkovitost 1,8-cineola kao i drugih komponenata eteričnih ulja (Shaaya et al., 1997; Lee et al., 2004a; Rozman et al., 2008). Naime, autori su utvrdili da je 1,8-cineol bio značajno manje učinkovit u prostoru ispunjenom zrnom pšenice u odnosu na učinkovitost u praznom prostoru. Kako bi se dodatno ispitaio utjecaj različito ispunjenog prostora na učinkovitost 1,8-cineola, autori Rozman et al. (2008) koristili su fumigantne posudice ispunjene zrnom pšenice zauzimajući 50% i 95% prostora. Test kukci su bili *C. ferrugineus*, *R. dominica* i *T. castaneum*. Pri koncentraciji od 50 g m^{-3} 1,8-cineol je imao različit utjecaj na odrasle jedinke testiranih vrsta. Najučinkovitiji je bio kod *C. ferrugineus*, zatim kod *R. dominica*, dok je najmanju učinkovitost imao kod vrste *T. castaneum*. Vrlo dobri rezultati postignuti su tretiranjem štetnika u praznom prostoru, no u ispunjenom prostoru (50% ili 95%) zrnom pšenice, 1,8-cineol je bio manje učinkovit. Autori ovu pojavu objašnjavaju dijelom radi sorpcije para od strane zrna, a dijelom slabom prodornošću para 1,8-cineola kroz zrnenu masu, što značajno smanjuje fumigantni učinak.

Ne postoje literaturni podaci koji bi osvijetlili problem penetracije para eteričnih ulja aplikacijama većih razmjera.

Obzirom da je razgradnja većine biljnih ekstrakata, uglavnom brza, unutar nekoliko dana, a ponekad i nekoliko sati, ovi insekticidi bi se trebali češće aplicirati. Češće aplikacije uz dodatak veće cijene koštanja (Korunić et al., 2008), čini uporabu eteričnih ulja značajno skupljom u odnosu na sintetičke insekticide.

Još jedan od čimbenika koji ograničava korištenje komponenata eteričnih ulja u praksi je i činjenica da za sada ne postoje toksikološki i sigurnosni podaci za registraciju ovih tvari kao fumiganata.

Autor Isman (2000) ispitaio je toksičnost i subletalne učinke nekih terpena i fenola eteričnih ulja. U svome radu detaljnije je opisao raspon biološke aktivnosti eteričnih ulja i njihovih komponenata, njihovu toksičnost i način djelovanja na kukce. Također, autor se osvrnuo i na njihov ekološki utjecaj, kao i na komercijalizaciju insekticida na bazi biljnih eteričnih ulja, navodeći tri glavne barijere njihove komercijalizacije: 1) nedovoljno bogat izvor prirodnog materijala; 2) potreba za kemijskom standardizacijom i kontrola kvalitete i

3) poteškoće u registraciji. Također isti autor (Isman, 2008) prosuđuje da se najveća korist od primijene botaničkih insekticida može postići u zemljama u razvoju, gdje je najviše zabilježenih otrovanja ljudi sintetičkim pesticidima. Osim toga, autor navodi da novije studije u Africi sugeriraju da ekstrakti iz lokalnih biljnih vrsta mogu biti učinkoviti za zaštitu usjeva, bilo da se koriste pojedinačno ili u kombinaciji sa sintetičkim insekticidima snižene koncentracije.

Općenito, aromatične biljke sadrže eterična ulja u koncentracijama od tek 1-3% w/w⁻¹ (Çakir, 1992). Prema tome, potrebna je velika količina biljnog materijala da bi se proizvela dovoljna količina eteričnog ulja za komercijalne svrhe. Ipak, pojedine komponente imaju veću učinkovitost u odnosu na učinkovitost cjelovitog ulja. Ova spoznaja daje prostora oplemenjivačima bilja za uzgoj biljnih varijeteta s većim udjelom ovih komponenata u svom sastavu. Osim toga, postoji i opcija sintetičke proizvodnje ovih komponenata.

Botanički bi insekticidi mogli imati značajnu ulogu u organskoj proizvodnji hrane, kako na polju, tako i u kontroliranim uvjetima.

1.2. Cilj istraživanja

Istraživanje je usmjereno na ispitivanje bioaktivnosti 1,8-cineola, kamfora i eugenola, odnosno komponenata u sastavu eteričnih ulja aromatičnih biljaka našeg podneblja (lavande, lovora, ružmarina i timijana) za suzbijanje kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst), štetnika uskladištenih žitarica iz reda Coleoptera, porodice Tenebrionidae.

Osnovni ciljevi istraživanja su:

1. Utvrditi insekticidni (kontaktni i fumigantni) učinak 1,8-cineola, eugenola i kamfora: na razvojne stadije kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst)
2. Utvrditi fumigantnu toksičnost 1,8-cineola, eugenola i kamfora u praznom prostoru i u 50% ispunjenom prostoru zrnom pšenice
3. Utvrditi razlike u osjetljivosti između razvojnih stadija *T. castaneum* (imago, ličinka i kukuljica) na ispitivane komponente
4. Utvrditi razlike u osjetljivosti između spolova u stadiju kukuljice *T. castaneum* na ispitivane komponente
5. Utvrditi fumigantni učinak 1,8-cineola, eugenola i kamfora na potomstvo *T. castaneum*

Ovo istraživanje usmjereno je na iznalaženje novih aktivnih tvari koje su alternativa dosadašnjim konvencionalnim sredstvima za zaštitu uskladištenih proizvoda od skladišnih štetnika. Time bi se doprinjelo stvaranju novih formulacija sredstava za zaštitu bilja koje su prvenstveno ekološki prihvatljive, i primjenjive u strategiji provođenja integriranih mjera zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda.

Osnovne hipoteze istraživanja:

1. Ispitivane komponente (1,8-cineol, kamfor i eugenol) imaju kontaktni i fumigantni učinak na sve ispitivane razvojne stadije kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst)
2. Testirani razvojni stadiji kestenjastog brašnara su različito osjetljivi na ispitivane komponente
3. Ispitivane komponente utječu na brojnost populacije potomstva nakon tretmana imaga kestenjastog brašnara

2. MATERIJAL I METODE RADA

Testiranje bioaktivnosti komponenata eteričnih ulja provedeno je tijekom dvije godine istraživanja 2008. i 2009. godine. Laboratorijske analize obavljene su u Zavodu za zaštitu bilja Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku.

PLAN I STRAŽIVANJA:

1. Uzgoj F1 generacije test kukaca (*T. castaneum*)
2. Uzgoj ličinki kestenjastog brašnara starosti 16 dana
3. Uzgoj kukuljica (pupa) starosti 1-3 dana, te razdvajanje po spolu
4. Laboratorijsko testiranje kontaktne toksičnosti pojedinih komponenata na imago, ličinke i kukuljice ispitivane vrste u 4 koncentracije 0,2; 1,0; 5,0 i 10,0 $\mu\text{l vol. uzorku}^{-1}$
5. Laboratorijsko testiranje fumigantne toksičnosti pojedinih komponenata na imago, ličinke i kukuljice u dva tretmana: tretman bez zrna (30, 60 i 120 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$) i tretman sa zrnom (120, 300 i 600 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$)
6. Laboratorijsko testiranje fumigantne toksičnosti pojedinih komponenata na brojnost potomstva (progeny test)

Ukupno za sve metode (kontaktna toksičnost, fumigantna toksičnost i test potomstva) postavljeno je 740 uzoraka. Da bi se osigurala dovoljna brojnost svih stadija i uzrasta brašnara, uzgoj je obnavljan tijekom cijelog razdoblja istraživanja.

2.1. MATERIJAL RADA

2.1.1. Komponente eteričnih ulja

Korištene komponente: 1,8-cineol, eugenol i kamfor nabavljene su od proizvođača „Sigma-Aldrich“ (Export Division Grünwalder Weg 30 D-82041 Deisenhofen, Germany) i „Fluka“ (Industriestrasse 25, CH-9471 Buchs, SG Switzerland). Eugenol i 1,8-cineol su u tekućem obliku, a kamfor u kristalnom. U svrhu dobivanja kamfora u tekućem obliku i mogućnosti aplikacije kamfora mikropipetom, kristalni kamfor otopljen je u 96%-tnom alkoholu (etanolu) u omjeru 1:1 g ml⁻¹ (Bećirević-Laćan i Jug, 2007).

2.1.2. Test kukci

Biologija kestenjastog brašnjara *Tribolium castaneum* (Herbst)

Kestenjasti brašnar *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) je polifagni, kozmopolitski štetnik iz reda Coleoptera porodice Tenebrionidae. Naročito je rasprostranjen u tropskim krajevima, a po brojnosti u skladištima u našoj zemlji nalazi se na trećem mjestu; iza hrđastog brašnjara *Cryptolestes ferrugineus* Steph. i žitnog kukuljičara *Rhyzopertha dominica* F. (Kalinović i Rozman, 2002). Smatra se da je izvorno stanište vrsta iz roda *Tribolium* bilo ispod kore drveća ili trulih panjeva gdje su se prvobitno hranili kao saprofiti ili fungivori, povremeno napadajući jajašca i kukuljice kukaca (Alabi, 2008). Kestenjasti brašnar je vrlo česta vrsta u populaciji štetnika koji napadaju uskladištenu pšenicu. Iako je prema načinu ishrane sekundarni štetnik, kestenjasti brašnar sposoban je oštećivati i zdrava zrna s vlagom višom od 13%. Osim žitarica, može infestirati široki raspon uskladištenih proizvoda uključujući suncokret, uljanu pogaču, brašno, leguminoze, kikiriki, kavu, suho voće, kakao, čokoladu, mlijeko u prahu, začine, te muzejske kolekcije herbarija (Mason, 2003). Karunakaran et al., (2004) su procijenili da je napad *T. castaneum*, u nezaštićenoj pšenici, u potpunosti reducirao klijavost i povećao oštećenje zrna sa 9% na 39% nakon 9 mjeseci uskladištenja.

Morfologija kestenjastog brašnjara *Tribolium castaneum* (Herbst)

Imago: tijelo je kestenjaste, crvenkasto smeđe boje, ventralno spljošteno, prekriveno neprimjetnim setama. Kaudalni segmenti postepeno su suženi, a 9. abdominalni segment završava s dva velika nastavka. Tijelo je dužine oko 3-4 mm. Ima sposobnost letenja iako nije dobar letač (Slika 1.). Ticala se sastoje iz 11 članaka, s tim da je 9. članak značajno veći od prethodnih formirajući tri segmentirane kijače (Slika 2.) po kojoj se razlikuje od vrste *Tribolium confusum* (du Val.) (Hayashi, 1966).



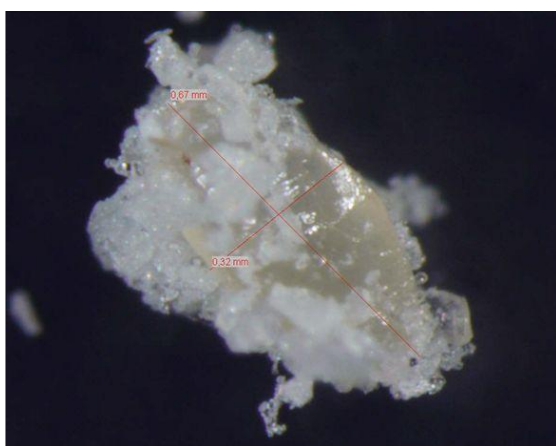
Slika 1. Imago *Tribolium castaneum* (Herbst)
(Foto: A. Liška)



Slika 2. Ticala *T. castaneum*
(Foto: A. Liška)

Jajašca: jajašca kestenjastog brašnara su prozirna ili bjeličaste boje s ljepljivom površinom. Dimenzije su oko 0,61 mm x 0,35 mm (Slika 3.) (Leelaja et al., 2007).

Ličinka: tijelo ličinki je vitko i cilindrično, kremaste ili žućkaste boje, sa smeđom glavom, dužine do 6 mm. Ima 6 nogu i dva tamnija nastavka na zadnjem segmentu abdomena (Slika 4) (Lyon, 2000).



Slika 3. Jajašce *T. castaneum* sa česticama brašna
(Foto: A. Liška)



Slika 4. Ličinka *T. castaneum* (Foto: A. Liška)

Kukuljica: bijele boje, sazrijevanjem postaju tamnije (Slika 5a). Ženke se razlikuju po većim spolnim papilama od mužjaka, smještenim odmah iznad abdominalnih nastavaka (Slika 5 b i 5c) (Lyon, 2000).



Slika 5a) Kukuljice *T. castaneum* (Foto:A. Liška)



Slika 5b) Muški spol kukuljice (Foto: A. Liška)



Slika 5c) Ženski spol kukuljice (Foto: A. Liška)

Životni ciklus

T. castaneum pripada skupini kukaca s potpunom preobrazbom, sa sva četiri stadija razvoja (jajašce, ličinka, kukuljica - pupa, odrasli - imago) (Slika 6).

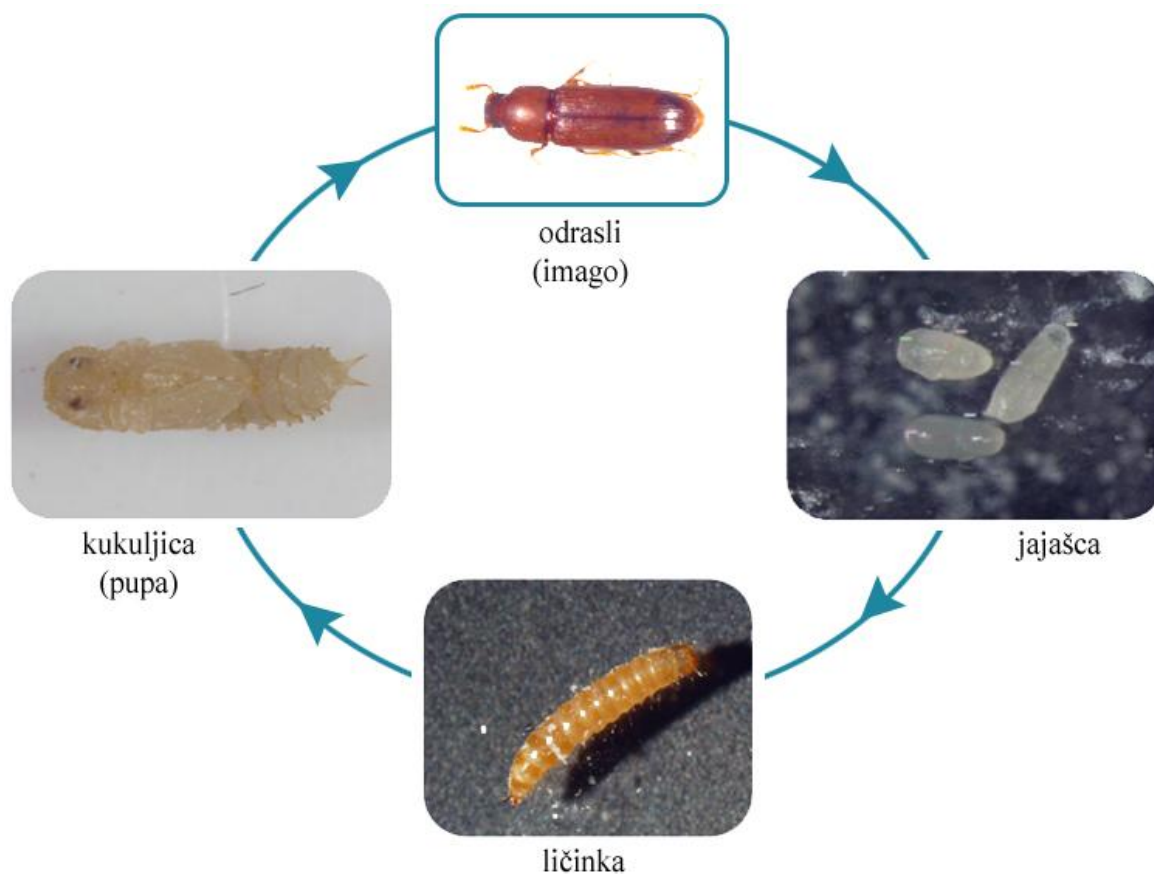
Jedan je od najdugovječnijih štetnika (do 3 godine; u prosjeku oko 200 dana) (Mason, 2003), s tim da se dugovječnost odraslih povećava s postotkom oštećenja zrna pšenice (White, 1982). Reproductivni vijek ženki iznosi 3-4 mjeseca, a mužjaka 4-6 mjeseci. Ženke odlažu 300 – 400 jaja direktno u brašno ili u neku drugu dostupnu hranu, u razdoblju od 5 do 8 mjeseci (2–3 jaja na dan).

Tek ispiljene ličinke mogu preživjeti samo ako imaju dovoljno dostupne hrane i povoljne ekološke uvjete. Dobro se razvijaju u prerađenim proizvodima od žitarica, a u masi cjelovitog zrna preferiraju klicu (White and Lambkin, 1988). Ličinke se presvlače 5-9 puta, ovisno o okolišnim uvjetima te dostupnom izvoru hrane, u normalnim uvjetima 6 puta (Bucher, 2006). Potpuno razvijene ličinke se transformiraju u kukuljice.

Optimalni uvjeti za razvoj kestenjastog brašnara su pri temperaturi od 35°C i relativnoj vlazi zraka od 60-80%. U Tablici 1. prikazano je trajanje pojedinog razvojnog stadija kestenjastog brašnara ovisno o temperaturama uzgoja. Pri nižim temperaturama od optimalnih, razvoj je znatno sporiji.

Zaraza može nastati u temperaturnom rasponu od 20°C do 38°C. Odrasli su vrlo aktivni, brže se kreću i prave veće štete od ličinki. Mogu se pronaći duboko unutar hrane ili na samoj površini. Ukoliko se nađu u uvjetima nedovoljnog izvora hrane ili u prenamnoženoj populaciji, odrasli i ličinke kestenjastog brašnara pokazuju osobine kanibalizma, hraneći se jajašcima i kukuljicama. Odrasli imaju sposobnost lučenja kinina specifičnog mirisa, te nerijetko pri većim zarazama, roba kojom se hrane poprima ružičastu boju i neugodan

miris. Kada su uvjeti pogodni, odrasli lako mogu preletjeti iz zaraženog skladišnog objekta. U praznim skladištima, odrasli se skrivaju u pukotine i druga skrivena mjesta, te tako predstavljaju opasnost za novu robu koja će se skladištiti.



Slika 6. Razvojni stadiji kestenjastog brašnara
(Foto: A. Liška)

Tablica 1. Trajanje pojedinih razvojnih stadija kestenjastog brašnara *T. castaneum*
(Beeman et al., <http://bru.gmprc.ksu.edu/proj/tribolium/wrangle.asp>)

Razvojna temperatura	30°C	34°C
Jajašce	3 dana	2 dana
Ličinka	20 dana	15 dana
Kukuljica	4 dana	3 dana
Spolno sazrijevanje	5 dana	4 dana
Ukupno vrijeme od jajašca do jajašca	32 dana	24 dana

2.2. METODE RADA

2.2.1. Uzgoj test kukaca *Tribolium castaneum* (Herbst)

Uzgoj test kukaca obavljen je u kontroliranim uvjetima na 30 ± 1 °C; 70-80% rvz; u tami (Liu et al., 1999). Uzgojna podloga korištena za sve razvojne stadije je pšenično oštro brašno i suhi kvasac u omjeru 10:1.

Uzgoj imaga F1 generacije: prosijavanjem uzgojnih podloga s kukcima svakih 25 dana, te odvajanje ličinki i stavljanje na razvoj do imaga starosti 2-4 tjedna u kontroliranim uvjetima (Rozman, 2003).

Uzgoj ličinki i kukuljica: populacija kestenjastog brašnara, u stadiju imaga pomiješanog spola, stavljena je u staklenke s hranjivim medijem radi kopulacije i polijeganja jajašaca. Uzgoj je ostavljen tri dana u kontroliranim uvjetima na 30 ± 1 °C; 70-80% rvz, u tami. Nakon trećeg dana izdvojeni su odrasli (imago), a preostalo brašno s položenim jajašcima ostavljeno je pri istim uvjetima na 16 dana za uzgoj ličinki, te na 20-25 dana za uzgoj kukuljica. Kukuljice su odvojene po spolu pomoću stereozoom lupe s digitalnom kamerom i softverom tipa Olympus SZX12, a u testiranju su korištene kukuljice starosti 1-3 dana.

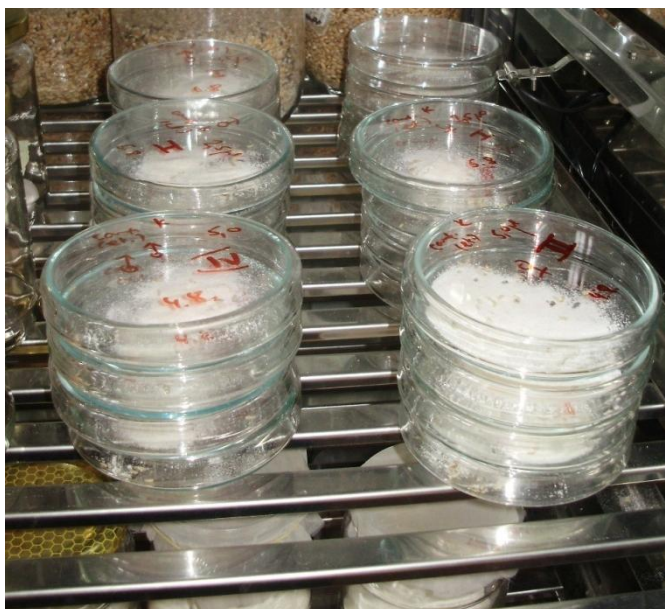
Da bi se osigurala dovoljna brojnost populacije svih razvojnih stadija određenog uzrasta kestenjastog brašnara, uzgoj stadija je obnavljan tijekom cijelog vremena istraživanja.

2.2.2. Kontaktna toksičnost 1,8-cineola, kamfora i eugenola

Kontaktna toksičnost testiranih komponenti eteričnih ulja obavljena je prema modificiranoj proceduri koju su opisali autori Obeng-Ofori et al. (1998) i to na 3 razvojna stadija vrste kestenjastog brašnara: stadij imaga starosti 2-4 tjedna, ličinke 16 dana i stadij kukuljice starosti 1-3 dana, odvojene po spolu. U svakom tretmanu korišteno je po 100 jedinki imaga i ličinki, odnosno po 25 kukuljica odvojeno za svaki spol, te je tretiranje komponenata obavljeno za svaku jedinku pojedinačno. 1,8-cineol, eugenol i kamfor su aplicirani Kartell mikropipetom na toraks imaga, ličinke odnosno kukuljice u 4 koncentracije: 0,2; 1,0; 5,0 i 10,0 μ l. Nakon aplikacije ulja, razvojni stadiji stavljeni su u kontrolirane uvjete do trenutka pregleda (Slika 7.).

Kako bi se otklonio utjecaj etanola, kontrola relevantna za suspenziju kamfora obavljena je sa slijedećim koncentracijama etanola (0,2; 0,5; 2,5 i 5,0 μ l na toraks imaga, ličinke i kukuljice). Kontrola relevantna za ulja 1,8-cineol i eugenol obavljena je u istim uvjetima bez aplikacije.

Kontaktne efekte određen je ekspozicijom djelovanja komponenata po letalnim koncentracijama nakon 2, 4 i 24 sata (Huang et al., 2000). Za određivanje kontaktne učinkovitosti komponenata na stadij kukuljice, određeni su mortalitet i aktivnost rasta kukaca, prema modificiranoj skali koju je opisao Mandava (1985). Za ispitivanje kontaktne toksičnosti komponenata postavljeno je ukupno 272 uzorka (po 68 uzorka za stadije imaga i ličinke, te 68 uzoraka po svakom spolu za stadij kukuljice).



Slika 7. Čuvanje tretiranih test kukaca u kontroliranim uvjetima
(Foto: A. Liška)

2.2.3. Fumigantna toksičnost 1,8-cineola, kamfora i eugenola

Fumigantna toksičnost 1,8-cineola, kamfora i eugenola utvrđena je na 3 razvojna stadija kestenjastog brašnara: stadij imaga starosti 2-4 tjedna, ličinke 16 dana i stadij kukuljice starosti 1-3 dana, odvojene po spolu. Fumigacija je obavljena u dva tretmana: tretman u praznom prostoru (bez zrna pšenice) i tretman u ispunjenom prostoru (s 50% ispunjenosti prostora zrnom pšenice).

Za određivanje fumigantne aktivnosti komponenata eteričnog ulja korištena je metoda koju su opisali Huang et al. (1998). Po 50 ličinki, odnosno imaga, te po 20 kukuljica odvojeno po spolu, stavljeno je u kaveze od mlinske svile, u četiri ponavljanja. Kavezi su stavljani u staklene posude volumena 350 ml, prazne (za tretman bez zrna; slika 8.) ili ispunjene zrnom pšenice zauzimajući 50% volumena staklenki (za tretman sa zrnom; slika 9.). Korištene komponente (1,8-cineol, eugenol i kamfor) testirane su u 6 koncentracija (30, 60 i 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ za tretman u praznom prostoru, te 120, 300 i 600 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ za tretman u

ispunjenom prostoru). Komponente su aplicirane Kartell mikropipetom na filter papir, zalijepljen na unutrašnjoj strani poklopca staklenki, koje su tijekom pokusa hermetički zatvorene i čuvane u kontroliranim uvjetima na 30 ± 1 °C; 70-80% rvz, u tami tijekom 48 sati. Nakon toga vremena, tretirani stadiji kestenjastog brašnara prebačeni su u čiste bočice. Kako bi se osigurala hrana za preživjele jedinke, u bočice je stavljen hranjivi medij (pšenično brašno i kvasac) (Huang et al., 2000). Tijekom praćenja mortaliteta, bočice su čuvane pri navedenim kontroliranim uvjetima.

Rezultati preliminarnih istraživanja upućuju da pare etanola također imaju insekticidno djelovanje na ispitivanog štetnika. Stoga, kako bismo dobili što objektivnije rezultate insekticidnog djelovanja kamfora, te isključili djelovanje etanola, kontrola za suspenziju kamfora obavljena je etanolom. Za tretman u praznom prostoru korištene su slijedeće koncentracije etanola: 15, 30 i 60 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$, a u ispunjenom prostoru koncentracije 60, 150 i 300 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ Kontrola relevantna za ulja 1,8-cineol i eugenol čuvana je pri istim uvjetima, ali bez aplikacije. Mortalitet imaga i ličinki bilježen je svaka 24 sata tijekom 7 dana ekspozicije.



Slika 8. Fumigacija u praznom prostoru „bez zrna pšenice“ (Foto: A. Liška)



Slika 9. Priprema fumigacije u 50% ispunjenom prostoru zrnom pšenice (Foto: A. Liška)

Za određivanje fumigantne učinkovitosti komponenata na stadij kukuljice, određeni su mortalitet i aktivnost rasta kukaca, prema modificiranoj skali koju je opisao Mandava (1985) (Tablica 2). Prema skali se određuje brojnost kukuljica koje su uginule u stadiju kukuljica, zatim brojnost „adultoid“ jedinki (Slika 10.) (žive i uginule), deformiranih imaga (Slika 11.) koji su se razvili iz tretiranih preživjelih kukuljica, te brojnost normalno razvijenih imaga bez deformacija (Slika 12.) Među populacijom kukaca preživjelih insekticidne tretmane, česte su pojave morfoloških deformacija ličinki i imaga, kao i pojava prijelaznih oblika iz jedan u drugi razvojni stadij (kukuljice u imago tzv. „adultoid“) (Khan, 1981). Prijelazni oblici kukuljica-imago ili „adultoid“ ima prednje

dijelove tijela nalik imagu i pigmentiran je, s raširenim prednjim i stražnjim krilima (ako su krila razvijena), dok je abdomen tipičnog izgleda kukuljice i nepigmentiran. Ove pojave se u manjoj mjeri mogu javiti i u normalnoj populaciji kukaca (uključujući i vrste iz roda *Tribolium*) bez tretiranja, ali su daleko intenzivnije izražene u sredinama koje nisu optimalne za njihov razvoj.

Tablica 2. Skala stadija razvoja kukuljica u imago *Tribolium castaneum* (Herbst)

Razvojni stadij	Pojašnjenje
0	Jedinke uginule u stadiju kukuljice
1	Prijelazni stadij iz kukuljice u imago („adultoid“)
2	Imago s deformacijama
3	Normalno razvijeni imago



Slika 10. „Adultoid“ jedinke *T. castaneum* srijeda i straga (Foto: A. Liška)



Slika 11. Imago *T. castaneum* s deformacijama (Foto: A. Liška)



Slika 12. Normalno razvijeni imago *T. castaneum* (Foto: A. Liška)

Za ispitivanje fumigantne toksičnosti komponenata postavljeno je ukupno 416 uzoraka za oba tretmana fumigacije (104 uzorka za stadij imaga, 104 uzorka za stadij ličinke, 104 uzorka za ženski spol stadija kukuljice, te 104 uzorka za muški spol stadija kukuljice).

2.2.4. Test potomstva (progeny test) kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst)

Test potomstva proveden je po metodi Jbilou et al. (2006). Po 30 imaga kestenjastog brašnara starosti 2-4 tjedna, pomješanog spola stavljeno je u staklene posude volumena 350 ml ispunjene miješavinom pšeničnog oštrog brašna i suhog kvasca, u omjeru 10:1, s 50% ispunjenošću prostora staklenki. Fumigacija imaga obavljena je istom metodom opisanom u tretmanu fumigantne toksičnosti komponenata na imago. Nakon 48 h fumigacije, prebrojane su uginule jedinke, a preostalo brašno s položenim jajascima stavljeno je u kontrolirane uvjete za uzgoj kroz 50 dana do pojave F1 generacije, koje je tada prebrojano (Slika 13).

Za ispitivanje fumigantne toksičnosti komponenata na potomstvo F1 generacije postavljeno je ukupno 52 uzorka (3 komponente x 4 repeticije) x 3 koncentracije komponenata + (kontrola bez aplikacije x 4 repeticije) + (kontrola s etanolom x 4 repeticije) x 3 koncentracije etanola.



Slika 13. Test potomstva (progeny test)
(Foto: A. Liška)

2.2.5. Statistička obrada podataka

Pokusi za sve tretmane (kontaktne i fumigantne učinkovitosti i test potomstva) postavljeni su po potpuno slučajnom planu u 4 ponavljanja za svaku komponentu, za sve testirane koncentracije, za svaki stadij *T. castaneum*, te kontrolu bez aplikacije ulja i kontrolu s etanolom. Statistička obrada prikupljenih podataka provedena je programima Statistica, Release 8 (1984-2008) i SAS/STAT Software 9.1.3. (2002-2003). Mortalitet ispitivanih stadija imaga i ličinki izražen je u postotku i prikazan vremenskim serijama (sati i dani) djelovanja komponenata i pripadajućih koncentracija. Brojnost jedinki po stadijima razvoja tretiranih kukuljica izražen je postotkom u odnosu na ukupan broj kukuljica postavljenih u pokusu.

Rezultati kontaktne učinkovitosti komponenata statistički su obrađeni analizom varijance ANOVA, a značajnost razlika utvrđena je LSD testom na razini vjerojatnosti 0,05. Obrada je provedena programom Statistica, Release 8.

Rezultati fumigantne učinkovitosti komponenata, kao i test potomstva, obrađeni su programom SAS/STAT Software 9.1.3. (2002-2003). U modulu SAS Interactive Data Analysis korišten je Kolmogorov-Smirnov test za utvrđivanje odstupanja distribucije ispitivanih varijabli od normalne distribucije. Jednosmjerna analiza varijance svih ispitivanih varijabli napravljena je u modulu SAS Analyst i korištena je procedura ANOVA. Utvrđene značajne razlike između svih tretmana su ispitane Tukey's Studentized Range (HSD) testom na razini vjerojatnosti 0,05, koji se koristi u slučajevima kada distribucija ispitivanih varijabli odstupa od normalne distribucije.

3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

3.1. REZULTATI KONTAKTNE DJELOTVORNOSTI 1,8-CINEOLA, KAMFORA I EUGENOLA

3.1.1. Stadij imaga kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst)

Testiranje kontaktne učinkovitosti komponenta na stadij imaga *T. castaneum* rezultiralo je različitom osjetljivošću testiranih jedinki ovisno o komponenti, koncentraciji i vremenu ekspozicije. Komponenta 1,8-cineol je pri najnižoj koncentraciji (0,2 µl/imago), te u najkraćem vremenu ekspozicije (2 sata) postigala 100%-tni mortalitet imaga (Tablica 3.).

Tablica 3. LSD-test kontaktne učinkovitosti 1,8-cineola za stadij imaga *T. castaneum* u odnosu na kontrolu (P<0,05)

Komponenta /kontrola	Koncentracija (µl /imago)	Mortalitet imaga <i>T. castaneum</i> (%)*		
		Ekspozicija		
		2 sata	4 sata	24 sata
		$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
1,8-cineol	0,2	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a
1,8-cineol	1	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a
1,8-cineol	5	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a
1,8-cineol	10	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a
Kontrola Ø	-	0,00±0,00 b	0,00±0,00 b	0,00±0,00 b

* srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike na nivo P<0,05; usporedba je po kolonama

Komponenta eugenol je postigala značajno viši mortalitet imaga u odnosu na svoju kontrolu (Tablica 4.), a mortalitet se kretao od 74,75% - 100%, ovisno o koncentraciji i vremenu ekspozicije.

Tablica 4. LSD-test kontaktne učinkovitosti eugenola za stadij imaga *T. castaneum* u odnosu na kontrolu ($P < 0,05$)

Komponenta/ kontrola	Koncentracija (μl /imago)	Mortalitet imaga <i>T. castaneum</i> (%)*		
		Ekspozicija		
		2 sata	4 sata	24 sata
		$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
eugenol	0,2	74,75 \pm 5,15 c	87,50 \pm 5,60 bc	100,00 \pm 0,00 a
eugenol	1	82,00 \pm 1,15 c	93,00 \pm 1,00 b	100,00 \pm 0,00 a
eugenol	5	91,00 \pm 1,91 b	98,00 \pm 1,15 a	100,00 \pm 0,00 a
eugenol	10	95,00 \pm 1,00 b	98,00 \pm 1,15 a	100,00 \pm 0,00 a
Kontrola \emptyset	-	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d

* srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike na nivo $P < 0,05$; usporedba je po kolonama

Također, statistički opravdane razlike dokazane su između kamfora i kontrole s etanolom u svim primijenjenim koncentracijama (Tablica 5.).

Tablica 5. LSD-test kontaktne učinkovitosti kamfora za stadij imaga *T. castaneum* u odnosu na kontrolu s etanolom ($P < 0,05$)

Komponenta	Mortalitet imaga <i>T. castaneum</i> (%)*		
	Ekspozicija		
	2 sata	4 sata	24 sata
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Koncentracija 0,2 μl /imago			
Kamfor	5,00 \pm 1,22 a	13,25 \pm 3,49 a	68,00 \pm 2,16 a
Kontrola ¹	0,00 \pm 0,00 b	0,25 \pm 0,25 b	2,75 \pm 1,10 b
Koncentracija 1,0 μl /imago			
Kamfor	7,75 \pm 0,85 a	20,25 \pm 1,10 a	74,75 \pm 6,34 a
Kontrola ²	0,5 \pm 0,28 b	1,25 \pm 0,69 b	4,75 \pm 1,18 b
Koncentracija 5,0 μl /imago			
Kamfor	7,25 \pm 0,47 a	19,00 \pm 0,70 a	74,25 \pm 3,35 a
Kontrola ³	0,00 \pm 0,00 b	0,00 \pm 0,00 b	2,00 \pm 1,08 b
Koncentracija 10,0 μl /imago			
Kamfor	6,25 \pm 1,37 a	18,00 \pm 0,00 a	78,50 \pm 6,84 a
Kontrola ⁴	0,50 \pm 0,50 b	0,75 \pm 0,75 b	3,00 \pm 0,57 b

* srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike na nivo $P < 0,05$; usporedba je po kolonama za svaku koncentraciju posebno

¹Kontrola s etanolom koncentracije 0,2 μl /imago

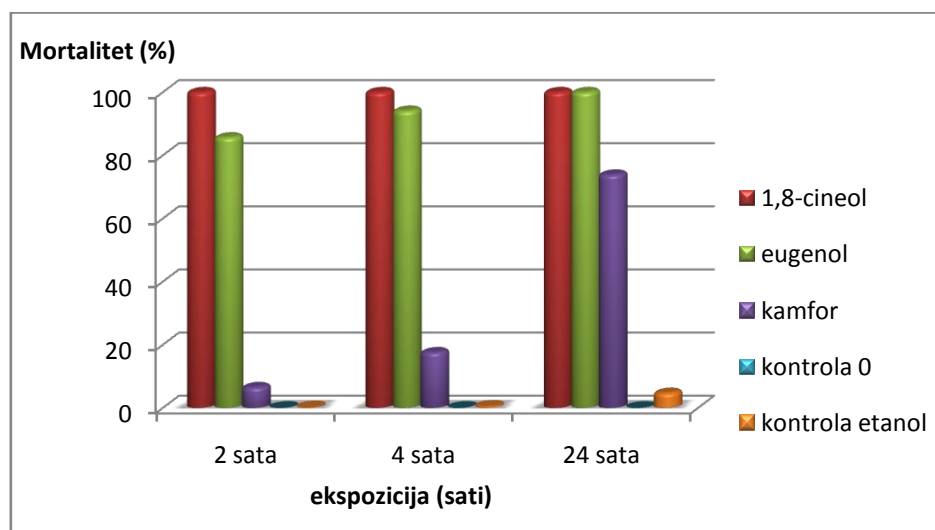
²Kontrola s etanolom koncentracije 0,5 μl /imago

³Kontrola s etanolom koncentracije 2,5 μl /imago

⁴Kontrola s etanolom koncentracije 5,0 μl /imago

Uspoređujući prosječnu učinkovitost pojedinih komponenata (Grafikon 1.) nakon kontaktne primjene, vidljivo je da je s 1,8-cineolom postignut najbolji mortalitet (100%) imaga *T. castaneum* već nakon 2 sata ekspozicije. Po prosječnoj učinkovitosti slijedi eugenol, dok je kamforom postignut prosječno najniži mortalitet imaga i nakon 24 sata ekspozicije.

U Tablici 6. prikazan je LSD-test kontaktne učinkovitosti testiranih komponenata po kojemu je vidljiva značajno veća djelotvornost 1,8-cineola u odnosu na eugenol i kamfor. Naime, 1,8-cineol je već pri najnižoj koncentraciji (0,2 μ l/imago) i najkraćoj ekspoziciji (2 sata) ostvario značajno viši mortalitet. Drugi po učinkovitosti je eugenol, kojim je 100% mortalitet imaga postignut tek produženom ekspozicijom od 24 sata pri 0,2 μ l /imago. Brže djelovanje eugenola (nakon 2 sata ekspozicije), postiže se povišenjem koncentracije sa 0,2 μ l na 10 μ l/imago, čime se zadržava mortalitet imaga u rangu visoke učinkovitosti. Nakon 2 sata ekspozicije, kamfor je u svim primijenjenim koncentracijama imao statistički niži mortalitet u odnosu na prva dva ulja. Osim toga, kamfor je imao i sporije djelovanje što pokazuje da je tek produženjem ekspozicije sa 2 na 24 sata (0,2 μ l/imago) postignut mortalitet istog ranga kao i s eugenolom nakon 2 sata (0,2 μ l/imago). Povećanjem koncentracije kamfora sa 0,2 na 10 μ l/imago, niti nakon 24 sata nije rezultiralo statistički višim mortalitetom imaga *T. castaneum*.



Grafikon 1. Kontaktna učinkovitost komponenata prosječno po svim koncentracijama na stadij imaga *T. castaneum*

Tablica 6. LSD-test kontaktne učinkovitosti komponenata nakon 2, 4 i 24 sata ekspozicije za stadij imaga *T. castaneum* ($P < 0,05$)

Komponenta	Koncentracija (μl /imago)	Mortalitet imaga <i>T. castaneum</i> (%)*		
		Ekspozicija		
		2 sata	4 sata	24 sata
		$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	0,2	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a
1,8-cineol	1	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a
1,8-cineol	5	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a
1,8-cineol	10	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a
eugenol	0,2	74,75 \pm 5,15 c	87,50 \pm 5,60 b	100,00 \pm 0,00 a
eugenol	1	82,00 \pm 1,15 b	93,00 \pm 1,00 b	100,00 \pm 0,00 a
eugenol	5	91,00 \pm 1,91 b	98,00 \pm 1,15 a	100,00 \pm 0,00 a
eugenol	10	95,00 \pm 1,00 ab	98,00 \pm 1,15 a	100,00 \pm 0,00 a
kamfor	0,2	5,00 \pm 1,22 e	13,25 \pm 3,49 de	68,00 \pm 2,16 c
kamfor	1	7,75 \pm 0,85 e	20,25 \pm 1,10 d	74,75 \pm 6,34 c
kamfor	5	7,25 \pm 0,47 e	19,00 \pm 0,70 d	74,25 \pm 3,35 c
kamfor	10	6,25 \pm 1,37 e	18,00 \pm 0,00 d	78,50 \pm 6,84 bc

* srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike na nivo $P < 0,05$; usporedba je po kolonama

3.1.2. Stadij ličinke kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst)

Testiranje komponenata kontaktnom primjenom rezultiralo je različitom osjetljivošću ličinki *T. castaneum* starosti 16 dana, i to ovisno o komponenti, koncentraciji i ekspoziciji. Kontaktnim djelovanjem komponenata 1,8-cineola i eugenola koncentracijama od 0,2 do 10 μl /ličinka, ostvarena je vrlo visoka osjetljivost na testirane ličinke kestenjastog brašnara. LSD-testom između 1,8-cineola i kontrole bez aplikacije (Tablica 7.) dokazane su opravdane razlike u mortalitetu ličinki brašnara. Naime, 1,8-cineol je već pri najnižoj koncentraciji i najkraćoj ekspoziciji rezultirao mortalitetom od 99,75% (pri 0,2 μl /ličinki nakon 2 sata).

Tablica 7. LSD-test kontaktne učinkovitosti 1,8-cineola po koncentracijama za stadij ličinke *T. castaneum* u odnosu na kontrolu bez aplikacije ($P < 0,05$)

Komponenta/ kontrola	Koncentracija ($\mu\text{l/ličinka}$)	Mortalitet ličinki <i>T. castaneum</i> (%)*		
		Ekspozicija		
		2 sata	4 sata	24 sata
		$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	0,2	99,75 \pm 0,25 a	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a
1,8-cineol	1	99,75 \pm 0,25 a	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a
1,8-cineol	5	99,75 \pm 0,25 a	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a
1,8-cineol	10	99,75 \pm 0,25 a	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a
Kontrola \emptyset	-	0,00 \pm 0,00 b	0,00 \pm 0,00 b	0,00 \pm 0,00 b

* srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $P < 0,05$; usporedba je po kolonama

Eugenol je ostvario mortalitet u rangu visoke učinkovitosti s koncentracijom od 5 $\mu\text{l/ličinki}$ nakon 2 sata (98,75%); odnosno produženjem ekspozicije sa 2 na 4 sata pri koncentraciji od 1 $\mu\text{l/ličinki}$ (99,00%) (Tablica 8.)

Tablica 8. LSD-test kontaktne učinkovitosti eugenola po koncentracijama za stadij ličinke *T. castaneum* u odnosu na kontrolu bez aplikacije ($P < 0,05$)

Komponenta/ kontrola	Koncentracija ($\mu\text{l/ličinka}$)	Mortalitet ličinki <i>T. castaneum</i> (%)*		
		Ekspozicija		
		2 sata	4 sata	24 sata
		$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
eugenol	0,2	93,25 \pm 2,05 c	96,50 \pm 1,04 bc	98,50 \pm 0,95 b
eugenol	1	98,25 \pm 0,47 b	99,00 \pm 0,57 a	100,00 \pm 0,00 a
eugenol	5	98,75 \pm 0,25 ab	99,25 \pm 0,25 a	100,00 \pm 0,00 a
eugenol	10	98,75 \pm 0,25 ab	99,25 \pm 0,25 a	100,00 \pm 0,00 a
Kontrola \emptyset	-	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d

* srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $P < 0,05$; usporedba je po kolonama

Opravdana razlika u mortalitetu ličinki između kamfora i kontrole s etanolom pripadajuće koncentracije, vidljiva je nakon 24 sata ekspozicije, pri koncentraciji od 0,2 i 1 μl /ličinki (Tablica 9.). Stoga, da bi se odredio stvaran utjecaj kamfora i otklonio utjecaj etanola, potrebno je mortalitet ličinki očitati nakon 24 sata. Pri dozi kamfora od 5 μl /ličinki, opravdana razlika u mortalitetu u odnosu na kontrolu s etanolom (2,5 μl /ličinki) postignuta je nakon 4 sata. Kontaktnom primjenom najviše koncentracije kamfora (10 μl /ličinki) već nakon 2 sata ekspozicije postignut je opravdano viši mortalitet ličinki u odnosu na kontrolu s etanolom (0,5 μl /ličinki).

Tablica 9. LSD-test kontaktne učinkovitosti kamfora po koncentracijama za stadij ličinke *T. castaneum* u odnosu na kontrolu s etanolom ($P < 0,05$)

Komponenta	Mortalitet ličinki <i>T. castaneum</i> (%)*		
	Ekspozicija		
	2 sata	4 sata	24 sata
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Koncentracija 0,2 μl/ličinki			
Kamfor	4,00 \pm 2,12 b	5,00 \pm 2,82 b	33,75 \pm 5,58a
Kontrola ¹	0,50 \pm 0,28 b	1,50 \pm 0,50 b	7,50 \pm 2,62 b
Koncentracija 1,0 μl/ličinki			
Kamfor	8,75 \pm 4,73 b	11,25 \pm 6,16 b	43,25 \pm 5,12 a
Kontrola ²	0,75 \pm 0,47 b	1,25 \pm 0,47 b	8,25 \pm 1,37 b
Koncentracija 5,0 μl/ličinki			
Kamfor	9,25 \pm 1,60 c	16,75 \pm 3,17 b	48,75 \pm 2,71 a
Kontrola ³	3,00 \pm 2,34 c	4,75 \pm 1,79 c	13,00 \pm 1,40 b
Koncentracija 10,0 μl/ličinki			
Kamfor	17,50 \pm 0,64 d	22,00 \pm 1,47 c	62,75 \pm 1,18 a
Kontrola ⁴	2,00 \pm 0,91 e	4,25 \pm 0,75 e	34,50 \pm 1,75 b

* srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike na nivo $P < 0,05$; usporedba je po kolonama za svaku koncentraciju posebno

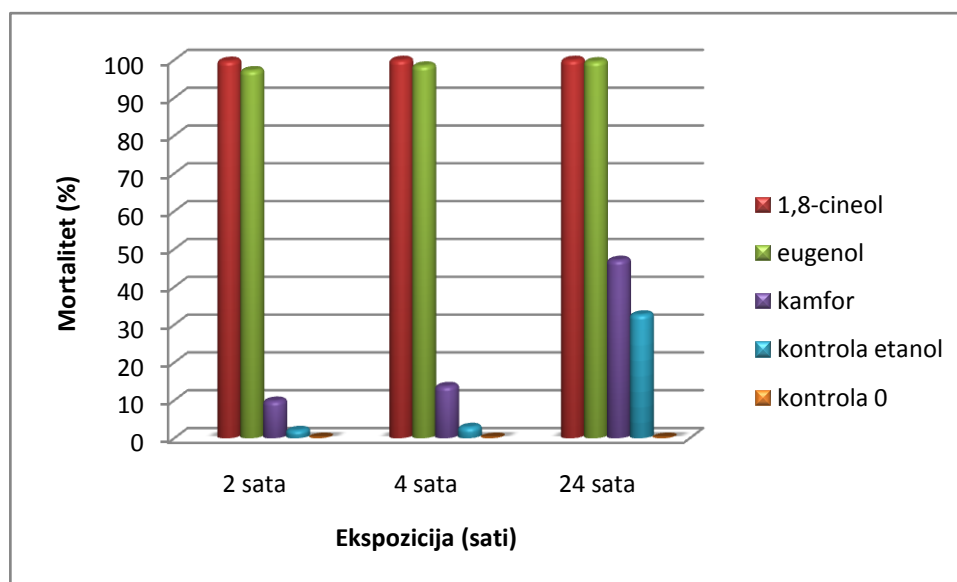
¹Kontrola s etanolom koncentracije 0,2 μl /imago

²Kontrola s etanolom koncentracije 0,5 μl /imago

³Kontrola s etanolom koncentracije 2,5 μl /imago

⁴Kontrola s etanolom koncentracije 5,0 μl /imago

Uspoređujući prosječnu učinkovitost pojedinih komponenata nakon kontaktne primijene (Grafikon 2.), vidljivo je da je 1,8-cineol bio najučinkovitiji, postigavši mortalitet ličinki u rangu visoke učinkovitosti, već nakon 2 sata ekspozicije. Po prosječnoj učinkovitosti slijedi eugenol (93,25-100% mortalitet nakon 2, 4 i 24 sata), te kamfor (4,00-62,25% mortalitet nakon 2, 4 i 24 sata).



Grafikon 2. Kontaktna učinkovitost komponenata prosječno po svim koncentracijama na stadij ličinki *T. castaneum*

U Tablici 10. prikazan je LSD-test kontaktne učinkovitosti testiranih komponenata po kojemu je vidljiva da je 1,8-cineol pri najnižoj koncentracijom (0,2 μ l/ličinki) i najkraćoj ekspoziciji (2 sata) ostvario značajno viši mortalitet ličinki u odnosu na eugenol i kamfor. Eugenol je bio tek nešto slabije učinkovit u odnosu na 1,8-cineol, kojim je postignut mortalitet u rangu visoke učinkovitosti (98,25%) s koncentracijom od 1 μ l/ličinki nakon 2 sata ekspozicije. Komponenta kamfor je i nakon 24 sata ekspozicije i pri najvišoj koncentraciji (10 μ l/ličinki) imao statistički niži mortalitet u odnosu na 1,8-cineol i eugenol.

Tablica 10. LSD-test kontaktne učinkovitosti izolata po koncentracijama nakon 2, 4 i 24 sata ekspozicije za stadij ličinki *T. castaneum* ($P < 0,05$)

Komponenta	Koncentracija ($\mu\text{l}/\text{ličinka}$)	Mortalitet ličinki <i>T. castaneum</i> (%)*		
		Ekspozicija		
		2 sata	4 sata	24 sata
		$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	0,2	99,75 \pm 0,25 a	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a
1,8-cineol	1	99,75 \pm 0,25 a	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a
1,8-cineol	5	99,75 \pm 0,25 a	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a
1,8-cineol	10	99,75 \pm 0,25 a	100,00 \pm 0,00 a	100,00 \pm 0,00 a
eugenol	0,2	93,25 \pm 2,05 c	96,50 \pm 1,04 bc	98,50 \pm 0,95 b
eugenol	1	98,25 \pm 0,47 b	99,00 \pm 0,57 a	100,00 \pm 0,00 a
eugenol	5	98,75 \pm 0,25 ab	99,25 \pm 0,25 a	100,00 \pm 0,00 a
eugenol	10	98,75 \pm 0,25 ab	99,25 \pm 0,25 a	100,00 \pm 0,00 a
kamfor	0,2	4,00 \pm 2,12 g	5,00 \pm 2,82 g	33,75 \pm 5,58 e
kamfor	1	8,75 \pm 4,73 g	11,25 \pm 6,16 fg	43,25 \pm 5,12 e
kamfor	5	9,25 \pm 1,60 g	16,75 \pm 3,17 f	48,75 \pm 2,71 e
kamfor	10	17,50 \pm 0,64 f	22,00 \pm 1,47 ef	62,75 \pm 1,18 d

* srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike na nivo $P < 0,05$; usporedba je po kolonama

3.1.3. Stadij kukuljice muškog spola kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst)

Nakon testiranja kontaktne učinkovitosti komponenata, testirane kukuljice kestenjastog brašnara muškog spola pokazale su različitu osjetljivost ovisno o apliciranoj komponenti i koncentraciji. Komponente 1,8-cineol i eugenol imali su podjednaku učinkovitost na ispitivane jedinke. Naime, LSD-testom između ove dvije komponente i kontrole bez aplikacije (Tablica 11.) dokazane su statistički značajne razlike. Već pri najnižoj koncentraciji (0,2 $\mu\text{l}/\text{kukuljici}$) i 1,8-cineol i eugenol su djelovali letalno na ispitivane kukuljice muškog spola, uzrokujući 100%-tni mortalitet, te tako onemogućili daljnji razvoj tretiranih kukuljica.

Tablica 11. LSD-test kontaktne učinkovitosti 1,8-cineola i eugenola za stadij kukuljice muškog spola *T. castaneum* (skala po Mandavi, 1985) ($P < 0,05$)

Komponenta	Koncentracija ($\mu\text{l}/\text{kukuljica}$) ♂	Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*			
		Razvojni stadij			
		Stadij 0	Stadij 1	Stadij 2	Stadij 3
		$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	0,2	100,00 \pm 0,00 a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d
1,8-cineol	1	100,00 \pm 0,00 a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d
1,8-cineol	5	100,00 \pm 0,00 a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d
1,8-cineol	10	100,00 \pm 0,00 a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d
eugenol	0,2	100,00 \pm 0,00 a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d
eugenol	1	100,00 \pm 0,00 a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d
eugenol	5	100,00 \pm 0,00 a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d
eugenol	10	100,00 \pm 0,00 a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00 d
Kontrola \emptyset	-	10,00 \pm 1,15 c	11,00 \pm 3,41c	0,00 \pm 0,00 d	79,00 \pm 3,78b

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $P < 0,05$; usporedba je po kolonama

Komponenta kamfor je kontaktnom aplikacijom pokazala slabije djelovanje na testirane kukuljice. Pri najnižoj koncentraciji (0,2 $\mu\text{l}/\text{kukuljici}$) nema opravdane razlike u odnosu na kontrolu s etanolom (Tablica 12.), što ukazuje da i etanol ima toksičan utjecaj na stadij kukuljice kestenjastog brašnara. Tek pri koncentraciji od 1,0 μl kamfora/kukuljici uočava se statistički značajno veći postotak deformiranih jedinki (Slika 14.) u stadiju 2 u odnosu na kontrolu s etanolom (21% jedinki u stadiju 2 - tretman s kamforom, te 3% jedinki u stadiju 2 - tretman kontrole s etanolom). Pri koncentraciji kamfora od 5 $\mu\text{l}/\text{kukuljici}$, te etanola kao kontrole od 2,5 $\mu\text{l}/\text{kukuljici}$, uočava se značajno jači toksični utjecaj etanola na stadij kukuljice u odnosu na tretman s kamforom (82% jedinki u stadiju 0 – tretman kontrole s etanolom, te 34% jedinki u stadiju 0 – tretman s kamforom). No pri ovoj koncentraciji, kamfor je utjecao na značajno veći postotak deformiranih jedinki u stadiju 2 u odnosu na kontrolu s etanolom (20% jedinki u stadiju 2 - tretman s kamforom, te 2% - tretmanu s etanolom), te na značajno manji postotak normalno razvijenih jedinki u stadiju 3. Gotovo isti utjecaj javlja se i pri najvišoj koncentraciji kamfora od 10 $\mu\text{l}/\text{kukuljici}$, odnosno etanola, kao kontrole od 5 $\mu\text{l}/\text{kukuljici}$.

Tablica 12. LSD-test kontaktne učinkovitosti kamfora za stadij kukuljice muškog spola *T. castaneum* (skala po Mandavi, 1985) ($P < 0,05$)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*				
Komponenta	Razvojni stadij			
	Stadij 0	Stadij 1	Stadij 2	Stadij 3
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
Koncentracija 0,2 μl/kukuljici ♂				
Kamfor	44,00 \pm 1,63a	15,00 \pm 3,00 b	10,00 \pm 2,58 c	31,00 \pm 4,12d
Kontrola ¹	46,00 \pm 11,01a	9,00 \pm 4,43 b	5,00 \pm 1,91 c	40,00 \pm 8,48 d
Koncentracija 1,0 μl/kukuljici ♂				
Kamfor	31,00 \pm 3,78 a	14,00 \pm 7,39 b	21,00 \pm 4,72 c	34,00 \pm 6,00e
Kontrola ²	34,00 \pm 2,58a	17,00 \pm 3,41 b	3,00 \pm 1,00 d	46,00 \pm 1,15e
Koncentracija 5,0 μl/kukuljici ♂				
Kamfor	34,00 \pm 4,76a	10,00 \pm 1,15 c	20,00 \pm 5,41 d	36,00 \pm 4,32 f
Kontrola ³	82,00 \pm 5,29 b	5,00 \pm 3,00 c	2,00 \pm 2,00 e	11,00 \pm 4,43 g
Koncentracija 10,0 μl/kukuljici ♂				
Kamfor	42,00 \pm 7,39 a	15,00 \pm 4,12 c	20,00 \pm 3,26 d	23,00 \pm 3,78 f
Kontrola ⁴	78,00 \pm 3,82 b	9,00 \pm 2,51 c	2,00 \pm 1,15 e	11,00 \pm 3,41 f

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je po kolonama za svaku koncentraciju posebno

¹Kontrola s etanolom koncentracije 0,2 μ l /imago

²Kontrola s etanolom koncentracije 0,5 μ l /imago

³Kontrola s etanolom koncentracije 2,5 μ l /imago

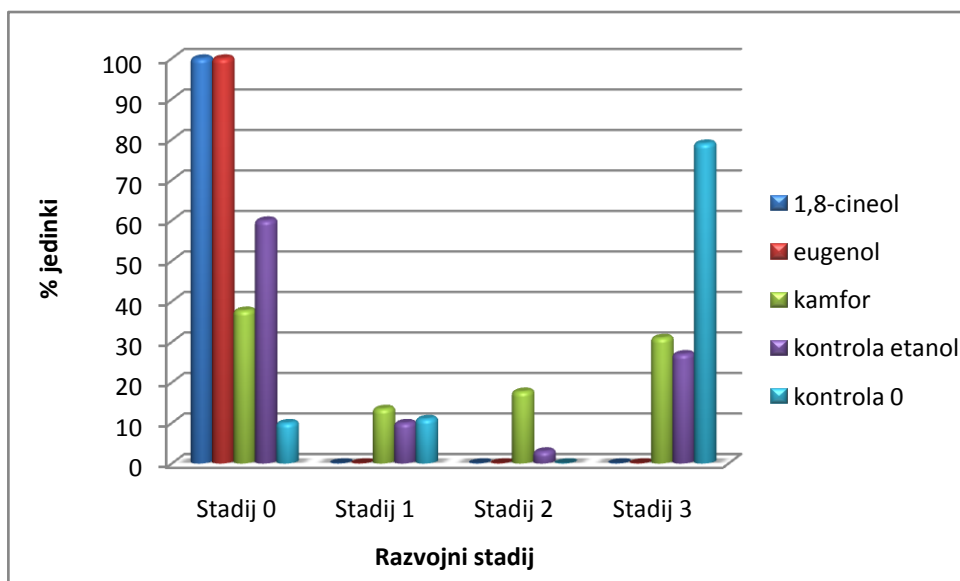
⁴Kontrola s etanolom koncentracije 5,0 μ l /imago



Slika 14. Deformacije u stadiju 2 izražene na pokrilju imaga *T. castaneum* (Foto: A. Liška)

Uspoređujući prosječnu učinkovitost pojedinih komponenata (Grafikon 3.) nakon kontaktne aplikacije na stadij kukuljice muškog spola *T. castaneum*, vidljivo je da su 1,8-cineol i eugenol jednako toksično djelovali postigavši 100% mortalitet tretiranih kukuljica (stadij 0). Kamfor je imao manji toksični utjecaj na tretirane kukuljice od prve dvije komponente, te je na preživjele kukuljice nadalje djelovao na stvaranje „adultoid“ jedinki u stadiju 1 i deformiranih jedinki u stadiju 2.

U Tablici 13. prikazan je LSD-test kontaktne učinkovitosti testiranih komponenata po kojemu je vidljivo da su 1,8-cineol i eugenol pri najnižoj koncentraciji (0,2 μ l/kukuljici) postigli 100% mortalitet tretiranih kukuljica u stadiju 0. Kamfor je za razliku od prve dvije komponente imao značajno manji toksični učinak na kukuljice pri istoj koncentraciji (44% jedinki u stadiju 0). Povećanjem koncentracije kamfora nije zabilježen opravdani porast toksičnosti tretiranih kukuljica u stadiju 0. Nadalje, kamfor je utjecao na pojavu deformiranih jedinki u stadiju 2 (od 10% do 21% jedinki u stadiju 2), no bez opravdanih razlika s povećanjem koncentracije kamfora. Ova komponenta je povećanjem koncentracije sa 0,2 na 10 μ l/kukuljici djelovala na smanjenje postotka normalno razvijenih jedinki u stadiju 3 (od 31% do 23% jedinki u stadiju 3), ali također bez statistički značajnih razlika.



Grafikon 3. Kontaktna učinkovitost komponenata prosječno po svim koncentracijama na kukuljice *T. castaneum* muškog spola

Tablica 13. LSD-test kontaktne učinkovitosti komponenata stadij kukuljice muškog spola *T. castaneum* (skala po Mandavi, 1985) ($P < 0,05$)

Komponenta	Koncentracija (μl) ♂	Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)			
		Razvojni stadij*			
		Stadij 0	Stadij 1	Stadij 2	Stadij 3
		$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	0,2	100,00±0,00a	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d
1,8-cineol	1	100,00±0,00a	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d
1,8-cineol	5	100,00±0,00a	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d
1,8-cineol	10	100,00±0,00a	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d
eugenol	0,2	100,00±0,00a	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d
eugenol	1	100,00±0,00a	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d
eugenol	5	100,00±0,00a	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d
eugenol	10	100,00±0,00a	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d	0,00±0,00 d
kamfor	0,2	44,00±1,63 b	15,00±3,00c	10,00±2,58 c	31,00±4,12b
kamfor	1	31,00±3,78 b	14,00±7,39c	21,00±4,72bc	34,00±6,00b
kamfor	5	34,00±4,76 b	10,00±1,15c	20,00±5,41bc	36,00±4,32b
kamfor	10	42,00±7,39 b	15,00±4,12c	20,00±3,26bc	23,00±3,78bc

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike na nivo $p < 0,05$; usporedba je po kolonama

3.1.4. Stadij kukuljice ženskog spola kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst)

Testiranje kontaktnog djelovanja komponenata 1,8-cineola i eugenola rezultiralo je vrlo visokom osjetljivošću na testirane jedinice kestenjastog brašnara u stadiju kukuljice ženskog spola. LSD-testom između ove dvije komponente i kontrole bez aplikacije (Tablica 14.) dokazane su statistički značajne razlike. Naime, i 1,8-cineol i eugenol su već pri najnižoj koncentraciji (0,2 μl /kukuljici) djelovali letalno na tretirane kukuljice sa 100%-tnim mortalitetom i na taj način onemogućili daljnji razvoj kukuljica.

Tablica 14. LSD-test kontaktne učinkovitosti 1,8-cineola i eugenola za stadij kukuljice ženskog spola *T. castaneum* i kontrola bez alikacije ($P < 0,05$) (skala po Mandavi, 1985)

Komponenta	Koncentracija ($\mu\text{l}/\text{kukuljici}$) ♀	Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)			
		Razvojni stadij*			
		Stadij 0	Stadij 1	Stadij 2	Stadij 3
		$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	0,2	100,00 \pm 0,00a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00d	0,00 \pm 0,00d
1,8-cineol	1	100,00 \pm 0,00a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00d	0,00 \pm 0,00d
1,8-cineol	5	100,00 \pm 0,00a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00d	0,00 \pm 0,00d
1,8-cineol	10	100,00 \pm 0,00a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00d	0,00 \pm 0,00d
eugenol	0,2	100,00 \pm 0,00a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00d	0,00 \pm 0,00d
eugenol	1	100,00 \pm 0,00a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00d	0,00 \pm 0,00d
eugenol	5	100,00 \pm 0,00a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00d	0,00 \pm 0,00d
eugenol	10	100,00 \pm 0,00a	0,00 \pm 0,00 d	0,00 \pm 0,00d	0,00 \pm 0,00d
Kontrola \emptyset	-	18,00 \pm 2,58 c	14,00 \pm 1,15c	0,00 \pm 0,00d	68,00 \pm 3,65b

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike na nivo $P < 0,05$; usporedba je po kolonama

Komponenta kamfor je kontaktnom aplikacijom pokazala slabije djelovanje na testirane kukuljice u odnosu na prve dvije komponente (Tablica 15.). Pri najnižoj koncentraciji (0,2 $\mu\text{l}/\text{kukuljici}$) nema opravdane razlike u odnosu na kontrolu s etanolom, osim u stadiju 2 gdje je uočljiv značajano veći postotak deformiranih jedinki u stadiju imaga u tretmanu s kamforom (15% jedinki u stadiju 2 – tretman s kamform, te 3% jedinki u stadiju 2 – tretman kontrole s etanolom). Povećanjem koncentracije sa 0,2 na 1,0 μl kamfora/kukuljici, uočava se značajno veći toksični utjecaj etanola na kukuljice u stadiju 0 u odnosu na kamfor (44% jedinki u stadiju 0 – tretman kontrole s etanolom, te 22% jedinki u stadiju 0 – tretman s kamforom). Pri istoj koncentraciji uočava se, također značajno veći postotak deformiranih jedinki u stadiju imaga (29% jedinki – tretman s kamforom, te 4% jedinki – tretman kontrole s etanolom). Isti trend nastavlja se povećanjem koncentracije na 5 i 10 μl kamfora/kukuljici, odnosno 2,5 i 5 μl etanola/kukuljici.

Tablica 15. LSD-test kontaktne učinkovitosti kamfora po koncentracijama za stadij kukuljice ženskog spola *T. castaneum* u odnosu na kontrolu s etanolom ($P < 0,05$) (skala po Mandavi, 1985)

Komponenta	Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)			
	Razvojni stadij*			
	Stadij 0	Stadij 1	Stadij 2	Stadij 3
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
Koncentracija 0,2 μl/kukuljici ♀				
Kamfor	34,00 \pm 5,29 a	12,00 \pm 5,88 b	15,00 \pm 3,00 c	39,00 \pm 4,12 e
Kontrola ¹	39,00 \pm 6,80 a	18,00 \pm 1,15 b	3,00 \pm 1,91 d	40,00 \pm 7,11 e
Koncentracija 1,0 μl/kukuljici ♀				
Kamfor	22,00 \pm 5,03 a	12,00 \pm 7,11 c	29,00 \pm 3,41 d	37,00 \pm 5,50 f
Kontrola ²	44,00 \pm 5,88 b	8,00 \pm 2,82 c	4,00 \pm 2,82 e	44,00 \pm 4,89 f
Koncentracija 5,0 μl/kukuljici ♀				
Kamfor	27,00 \pm 6,60 a	16,00 \pm 4,32 c	21,00 \pm 6,60 d	36,00 \pm 6,92 f
Kontrola ³	83,00 \pm 3,00 b	6,00 \pm 1,15 c	1,00 \pm 1,00 e	10,00 \pm 3,82 g
Koncentracija 10,0 μl/kukuljici ♀				
Kamfor	27,00 \pm 6,60 a	16,00 \pm 4,32 c	21,00 \pm 6,60 d	36,00 \pm 6,92 f
Kontrola ⁴	83,00 \pm 3,00 b	6,00 \pm 1,15 c	1,00 \pm 1,00 e	10,00 \pm 3,82 g

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je po kolonama za svaku koncentraciju posebno

¹Kontrola s etanolom koncentracije 0,2 μ l /imago

²Kontrola s etanolom koncentracije 0,5 μ l /imago

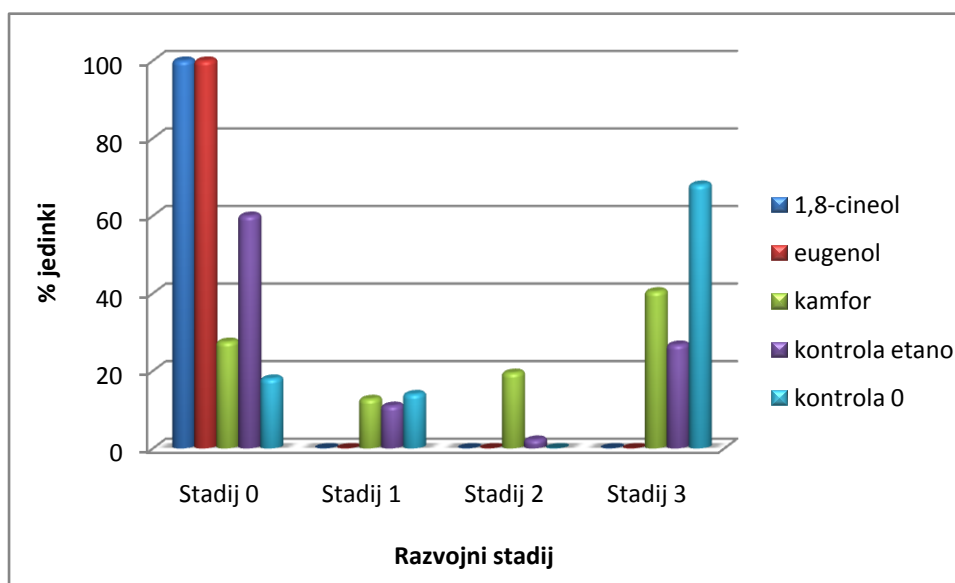
³Kontrola s etanolom koncentracije 2,5 μ l /imago

⁴Kontrola s etanolom koncentracije 5,0 μ l /imago

Uspoređujući prosječnu učinkovitost pojedinih komponenata (Grafikon 4.) nakon kontaktne aplikacije na stadij kukuljice ženskog spola *T. castaneum*, vidljivo je da su 1,8-cineol i eugenol jednako toksično djelovali postigavši 100% mortalitet tretiranih kukuljica (stadij 0). Kamfor je imao manji toksični utjecaj na tretirane kukuljice od prve dvije komponente, te je kod preživjelih kukuljica utjecao na stvaranje „adultoid“ jedinki u stadiju 1 i deformiranih jedinki u stadiju 2.

U Tablici 16. prikazan je LSD-test kontaktne učinkovitosti testiranih komponenata po kojemu je vidljivo da su 1,8-cineol i eugenol pri najnižoj koncentraciji (0,2 μ l/kukuljici) postigli 100% mortalitet kukuljica ženskog spola. Kamfor je za razliku od prve dvije komponente imao značajno manji toksični učinak na kukuljice pri istoj koncentraciji (34% jedinki u stadiju 0). Povećanjem koncentracije kamfora nije zabilježen opravdani porast toksičnosti na tretirane kukuljice u stadiju 0. Nadalje, kamfor je utjecao na pojavu deformiranih imaga (od 13% do 29% jedinki u stadiju 2), no bez opravdanih razlika s

povećanjem koncentracije kamfora. Postotak jedinki koje su se normalno razvile u imago, nakon kontaktne aplikacije kamfora, kretao se od 50-36%, no bez statističkih razlika obzirom na koncentraciju (stadij 3 iz skale).



Grafikon 4. Kontaktna učinkovitost komponenata prosječno po svim koncentracijama na kukuljice *T. castaneum* ženskog spola

Tablica 16. LSD-test kontaktne učinkovitosti izolata za kukuljice *T. castaneum* ženskog spola i kontrola s etanolom ($P < 0,05$) (skala po Mandavi, 1985)

Komponenta	Koncentracija $\mu\text{l/kukuljici}$ ♀	Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)			
		Razvojni stadij*			
		Stadij 0	Stadij 1	Stadij 2	Stadij 3
		$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	0,2	100,00±0,00a	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e
1,8-cineol	1	100,00±0,00a	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e
1,8-cineol	5	100,00±0,00a	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e
1,8-cineol	10	100,00±0,00a	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e
eugenol	0,2	100,00±0,00a	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e
eugenol	1	100,00±0,00a	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e
eugenol	5	100,00±0,00a	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e
eugenol	10	100,00±0,00a	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e	0,00±0,00 e
kamfor	0,2	34,00±5,29bc	12,00±5,88cd	15,00±3,00 cd	39,00±4,12 b
kamfor	1	22,00±5,03 c	12,00±7,11cd	29,00±3,41 c	37,00±5,50bc
kamfor	5	27,00±6,60 c	16,00±4,32cd	21,00±6,60 c	36,00±6,92bc
kamfor	10	27,00±5,25 c	11,00±4,12cd	13,00±3,41cd	50,00±2,00 b

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike na nivo $P < 0,05$; usporedba je po kolonama

3.2. REZULTATI FUMIGANTNE DJELOTVORNOSTI 1,8-CINEOLA, KAMFORA I EUGENOLA

3.2.1. Stadij imaga kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst)

3.2.1.1. Tretman fumigacije u praznom prostoru

Ispitivanje fumigantne učinkovitosti komponenata na stadij imaga *T. castaneum* rezultiralo je različitom osjetljivošću testiranih imaga ovisno o primijenjenoj komponenti i koncentraciji (Tablica 17.). Nakon sedam dana ekspozicije, prosječni mortalitet imaga kretao se u rasponu od 0,00% (eugenol pri 60 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$) do 98,50% (1,8-cineol pri 30 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$). Između pojedinih komponenata, Tukey's testom je utvrđena statistički značajna razlika u mortalitetu imaga ($F=352,72$; $df=2$; $p<0,0001$; $R^2=0,739$). Među komponentama, po učinkovitosti se ističe 1,8-cineol s najvišim prosječnim mortalitetom od 98,50%, slijedi kamfor s 34,21%, te eugenol s prosječnim mortalitetom od tek 0,33%. U svim testiranim koncentracijama, 1,8-cineol je imao značajno viši mortalitet od eugenola; odnosno kamfora u dvije niže koncentracije (60 i 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$) (Tukey's test, $\alpha=0,05$). Svakim porastom koncentracije kamfora, rasla je i njegova učinkovitost, pa je pri najvišoj (120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$) postignut mortalitet imaga u rangu visoke učinkovitosti 24 sata nakon fumigacije (Tukey's test, $\alpha=0,05$). Eugenol, kao najmanje efektivna komponenta, imala je statistički niži mortalitet u odnosu na 1,8-cineol pri sve tri testirane koncentracije; odnosno na kamfor pri 60 i 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ (Tukey's test, $\alpha=0,05$), stoga se ne preporuča njegova primjena za kontrolu imaga *T. castaneum* u tretmanu fumigacije bez zrna.

Tablica 17. Fumigantna učinkovitost komponenata u tretmanu bez zrna na imago *T. castaneum* tijekom sedam dana ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Komponenta	Mortalitet imaga <i>T. castaneum</i> (%)*						
	Ekspozicija (dani)						
	1	2	3	4	5	6	7
	Konzentracija 30 μl 350 ml^{-1}						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a
Eugenol	0,50 \pm 0,50b	0,50 \pm 0,50b	0,50 \pm 0,50b	0,50 \pm 0,50b	0,50 \pm 0,50b	0,50 \pm 0,50b	0,50 \pm 0,50b
Kamfor	2,00 \pm 2,00b	3,00 \pm 2,38b	3,50 \pm 2,21b	3,50 \pm 2,21b	3,50 \pm 2,21b	3,50 \pm 2,21b	3,50 \pm 2,21b
	Konzentracija 60 μl 350 ml^{-1}						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a
Eugenol	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b
Kamfor	6,50 \pm 0,95c	7,00 \pm 0,57c	7,00 \pm 0,57c	7,00 \pm 0,57c	7,00 \pm 0,57c	7,00 \pm 0,57c	7,00 \pm 0,57c
	Konzentracija 120 μl 350 ml^{-1}						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a
Eugenol	0,50 \pm 0,50b	0,50 \pm 0,50b	0,50 \pm 0,50b	0,50 \pm 0,50b	0,50 \pm 0,50b	0,50 \pm 0,50b	0,50 \pm 0,50b
Kamfor	90,50 \pm 3,94a	93,00 \pm 3,51a	93,50 \pm 3,20a	93,50 \pm 3,20a	93,50 \pm 3,20a	93,50 \pm 3,20a	93,50 \pm 3,20a
	Prosjek po svim koncentracijama						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	98,50 \pm 0,00	98,50 \pm 0,00	98,50 \pm 0,00	98,50 \pm 0,00	98,50 \pm 0,00	98,50 \pm 0,00	98,50 \pm 0,00
Eugenol	0,33 \pm 0,22	0,33 \pm 0,22	0,33 \pm 0,22	0,33 \pm 0,22	0,33 \pm 0,22	0,33 \pm 0,22	0,33 \pm 0,22
Kamfor	33,05 \pm 1,09	34,33 \pm 1,05	34,66 \pm 0,94	34,66 \pm 0,94	34,66 \pm 0,94	34,66 \pm 0,94	34,66 \pm 0,94

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

Vrijednosti mortaliteta između 1,8-cineola i kontrolnih uzoraka bez aplikacije ulja, su se značajno razlikovale ($F=12348,0$; $df=3$; $p<0,0001$) što je vidljivo iz Tablice 18. Između koncentracija 1,8-cineola nije zabilježen značajan porast mortaliteta, stoga bi opravdana koncentracija 1,8-cineola za suzbijanje *T. castaneum* u stadiju imaga bila 30 μl 350 ml^{-1} vol., kojom se postiže maksimalan mortalitet od 98,50% i to već 1. dana nakon fumigacije. Također, iz iste tablice vidljivo je da se komponenta eugenol nije značajno razlikovala od kontrole niti pri najvišoj koncentraciji ($F= 3,0$; $df=3$; $p=0,03$). Stoga, može se zaključiti da komponenta eugenol nije imala opravdanu fumigantnu učinkovitost na imago *T. castaneum* u tretmanu bez zrna.

Tablica 18. Fumigantna učinkovitost 1,8-cineola i eugenola s kontrolom u tretmanu bez zrna na imago *T. castaneum* 7. dan ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Koncentracija ($\mu\text{l}/350\text{ml}$)	Mortalitet imaga <i>T. castaneum</i> (%)*	
	1,8-cineol	Eugenol
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
30	98,50 \pm 0,50a	0,50 \pm 0,160a
60	98,50 \pm 0,50a	0,00 \pm 0,00b
120	98,50 \pm 0,50a	0,50 \pm 0,160a
Kontrola 0	0,50 \pm 0,160b	0,50 \pm 0,160a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je po kolonama

Pri najnižoj koncentraciji kamfora (30 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$), mortalitet se nije značajno razlikovao u odnosu na pripadajuću kontrolu s etanolom (Tukey's test, $\alpha=0,05$) (Tablica 19.). Povišenjem koncentracije sa 30 na 60 i 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$, postiže se opravdano viši mortalitet imaga u odnosu na njima pripadajuće kontrole.

Tablica 19. Fumigantna učinkovitost kamfora i kontrola u tretmanu bez zrna na imago *T. castaneum* 7. dan ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Komponenta /kontrola	Mortalitet imaga <i>T. castaneum</i> (%)*		
	Koncentracija ($\mu\text{l}/350\text{ml}$)		
	30	60	120
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Kamfor	3,21 \pm 0,74a	6,42 \pm 0,41a	93,00 \pm 1,13a
Kontrola ¹	0,00 \pm 0,00a	0,00 \pm 0,00b	2,00 \pm 0,27b

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je po kolonama

¹Kontrola s etanolom koncentracija 15, 30 i 60 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$

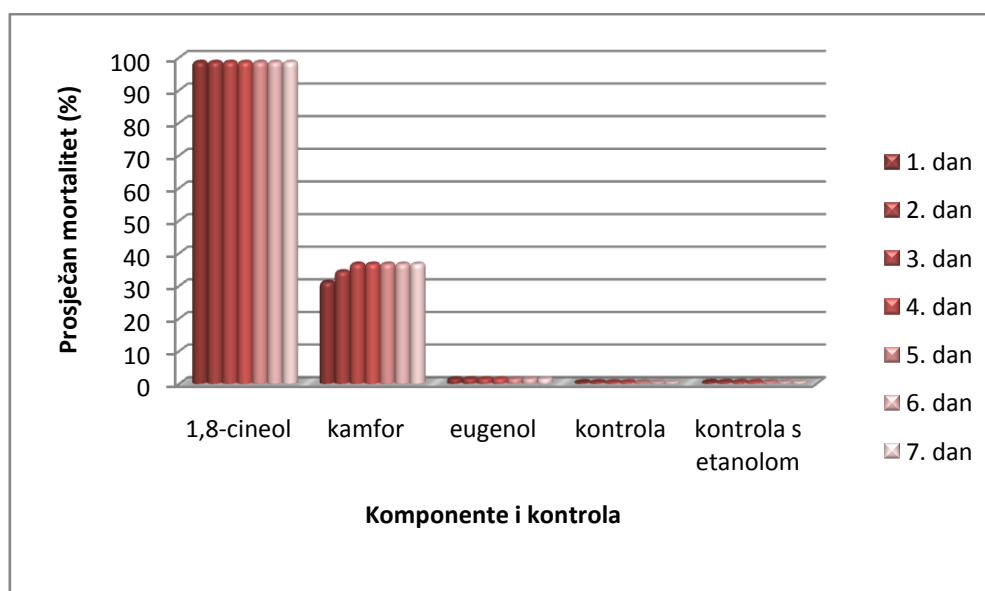
Između sve tri koncentracije kamfora postojale su značajne razlike ($F=3846,9$; $df=2$; $p<0,0001$) (Tablica 20.), stoga bi preporučena koncentracija kamfora bila 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$, s kojom je postignut mortalitet imaga od 93,00%.

Tablica 20. Fumigantna učinkovitost kamfora po koncentracijama u tretmanu bez zrna na imago *T. castaneum* 7. dan ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Koncentracija ($\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$)	Kamfor*
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
30	3,21 \pm 0,74 b
60	6,42 \pm 0,40 b
120	93,00 \pm 1,13a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je po kolonama

Prosječno, sve tri ispitivane komponente eteričnih ulja imaju relativno brzo početno djelovanje na imago *T. castaneum*. Naime, već 1. dana nakon fumigacije pokazale su određeno letalno djelovanje, koje je bilo ujednačeno tijekom 7 dana ekspozicije (Grafikon 5.), što daje mogućnost očitavanja najveće učinkovitosti sve tri komponente već 24 sata nakon fumigacije.



Grafikon 5. Mortalitet (%) imaga *T. castaneum* po komponentama prosječno za sve koncentracije u tretmanu fumigacije bez zrna

3.2.1.2. Tretman fumigacije u prostoru ispunjenom zrnom pšenice

U tretmanu fumigacije sa zrnom, ispitivane komponente pokazale su statistički značajnu razliku u učinkovitosti na imaga *T. castaneum*, ovisno o komponenti i koncentraciji (Tablica 21.). Na kraju ekspozicije (7. dan), mortalitet se kretao u rasponu od 0,00% (kod eugenola) do 99,50% (kod 1,8-cineola). Između pojedinih komponenata, Tukey's testom je utvrđena statistički značajna razlika u mortalitetu imaga ($F=838,88$; $df=2$; $p<0,0001$; $R^2=0,87$). I u tretmanu sa zrnom, po učinkovitosti se ističe komponenta 1,8-cineol s prosječnim mortalitetom od 97,30%, slijedi kamfor s 20,83%, te na kraju eugenol koji u tretmanu fumigacije sa zrnom nije djelovao letalno na ispitivane jedinke, čak niti pri najvećoj koncentraciji ($120 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$). U svim testiranim koncentracijama, 1,8-cineol je imao značajno viši mortalitet u odnosu na ostale dvije testirane komponente (Tukey's test, $\alpha=0,05$). Značajno veća učinkovitosti kamfora u odnosu na eugenol, postignuta je porastom koncentracije sa 60 na $120 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1} \text{ vol.}$ (Tukey's test, $\alpha=0,05$), no treba naglasiti da je postignuti mortalitet imaga (53,00% - 7. dan ekspozicije) gotovo dvostruko niži od mortaliteta postignut 1,8-cineolom pri $30 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$ (93,00% - 7. dan ekspozicije).

Tablica 21. Fumigantna učinkovitost komponenata u tretmanu sa zrnom na imago *T. castaneum* tijekom sedam dana ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Komponenta	Mortalitet imaga <i>T. castaneum</i> (%)*						
	Ekspozicija (dani)						
	1	2	3	4	5	6	7
	Konzentracija 120 μl 350 ml^{-1}						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	92,50 \pm 3,31a	93,00 \pm 3,31a	93,00 \pm 3,31a	93,00 \pm 3,31a	93,00 \pm 3,31a	93,00 \pm 3,31a	93,00 \pm 3,31a
Eugenol	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b
Kamfor	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b
	Konzentracija 300 μl 350 ml^{-1}						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	99,50 \pm 0,50a	99,50 \pm 0,50a	99,50 \pm 0,50a	99,50 \pm 0,50a	99,50 \pm 0,50a	99,50 \pm 0,50a	99,50 \pm 0,50a
Eugenol	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b
Kamfor	8,00 \pm 6,73b	9,50 \pm 7,54b	9,50 \pm 7,54b	9,50 \pm 7,54b	9,50 \pm 7,54b	9,50 \pm 7,54b	9,50 \pm 7,54b
	Konzentracija 600 μl 350 ml^{-1}						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	99,50 \pm 0,50a	99,50 \pm 0,50a	99,50 \pm 0,50a	99,50 \pm 0,50a	99,50 \pm 0,50a	99,50 \pm 0,50a	99,50 \pm 0,50a
Eugenol	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b
Kamfor	51,50 \pm 13,57c	52,50 \pm 13,32c	53,00 \pm 13,17c	53,00 \pm 13,17c	53,00 \pm 13,17c	53,00 \pm 13,17c	53,00 \pm 13,17c
	Prosjek po svim koncentracijama						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	97,33 \pm 1,24	97,33 \pm 1,24	97,33 \pm 1,24	97,33 \pm 1,24	97,33 \pm 1,24	97,33 \pm 1,24	97,33 \pm 1,24
Eugenol	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
Kamfor	19,83 \pm 4,53	20,66 \pm 4,63	20,83 \pm 4,60	20,83 \pm 4,70	20,83 \pm 4,80	20,83 \pm 4,90	20,83 \pm 4,10

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

Vrijednosti mortaliteta između 1,8-cineola i kontrolnih uzoraka bez aplikacije ulja, su se značajno razlikovale ($F=7441,78$; $df=3$; $p<0,0001$) što je vidljivo iz Tablice 22. Između koncentracije 120 μl 350 ml^{-1} vol. i 300 μl 350 ml^{-1} vol. 1,8-cineola je bilo značajnih razlika u mortalitetu imaga, stoga je opravdana koncentracija za kontrolu *T. castaneum* 300 μl 350 ml^{-1} vol. kojom je postignut mortalitet od 99,50%. Također, iz iste tablice vidljivo je da se komponenta eugenol nije značajno razlikovala od kontrole niti pri najvišoj koncentraciji, što ukazuje na to da eugenol nije preporučljiv za suzbijanje imaga *T. castaneum* ovom metodom fumigacije.

Tablica 22. Fumigantna učinkovitost 1,8-cineola i eugenola s kontrolom u tretmanu sa zrnom na imago *T. castaneum* 7. dan ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Koncentracija ($\mu\text{l}/350\text{ml}$)	Mortalitet vrste <i>T. castaneum</i> (%)*	
	1,8-cineol	Eugenol
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
120	92,92 \pm 1,10b	0,00 \pm 0,00a
300	99,50 \pm 0,16a	0,00 \pm 0,00a
600	99,50 \pm 0,16a	0,00 \pm 0,00a
Kontrola 0	0,00 \pm 0,00c	0,00 \pm 0,00a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je po kolonama

Između komponente kamfora i kontrole s etanolom zamijećena je značajna razlika, i to pri najnižoj koncentraciji (120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ kamfora, odnosno 60 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ etanola) pri kojoj je veći mortalitet imao etanol (Tukey's test, $\alpha=0,05$) (Tablica 23.). To ukazuje da i etanol ima letalni utjecaj na tretirani stadij *T. castaneum*, no treba naglasiti da se radi o relativno niskom mortalitetu (0,50%). Pri većim koncentracijama (300 i 600 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$), kamfor je imao značajno viši mortalitet od kontrole s etanolom pripadajuće koncentracije (9,28% i 52,71%).

Tablica 23. Fumigantna učinkovitost kamfora i kontrola u tretmanu sa zrnom na imago *T. castaneum* 7. dan ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Komponenta /kontrola	Mortalitet imaga <i>T. castaneum</i> (%)*		
	Koncentracija (μl 350 ml^{-1})		
	120	300	600
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Kamfor	0,00 \pm 0,00b	9,28 \pm 2,48a	52,71 \pm 4,42a
Kontrola ¹	0,50 \pm 0,16a	0,00 \pm 0,00b	4,50 \pm 0,87b

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je po kolonama

¹Kontrola s etanolom koncentracija 60, 150 i 300 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$

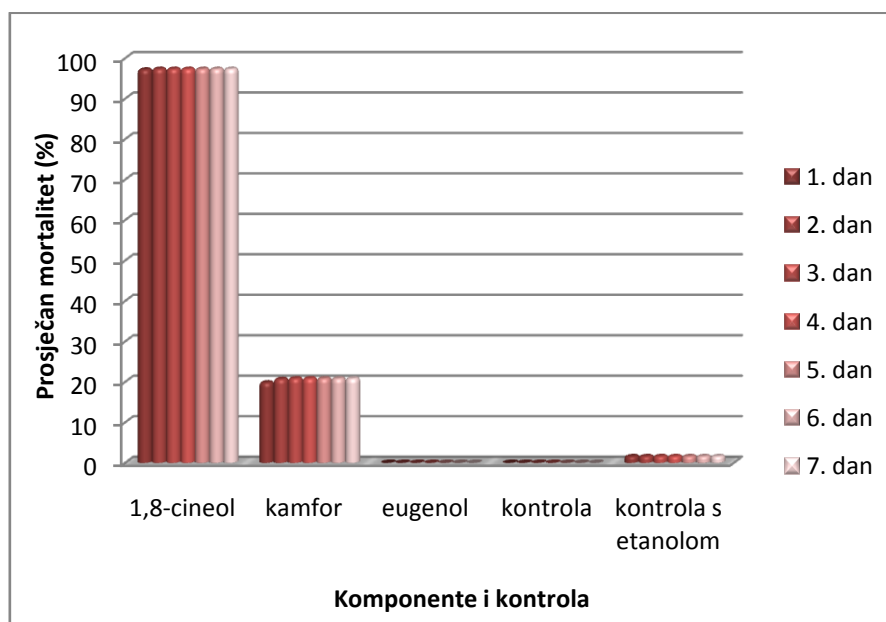
Između sve tri koncentracije kamfora postojale su značajne razlike u mortalitetu imaga (Tukey's test, $\alpha=0,05$) (Tablica 24.). Preporučena koncentracija kamfora bi bila 600 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$, obzirom da je tek pri najvišoj koncentraciji postignut zadovoljavajući mortalitet imaga od 52,71% sedmog dana ekspozicije.

Tablica 24. Fumigantna učinkovitost kamfora po koncentracijama u tretmanu sa zrnom na imago *T. castaneum* 7. dan ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Koncentracija ($\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$)	Kamfor*
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
120	0,00 \pm 0,00c
300	9,28 \pm 2,48 b
600	52,71 \pm 4,42 a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je po kolonama

Prosječno, komponente 1,8-cineol i kamfor su već 1. dana nakon fumigacije pokazale određeno letalno djelovanje na imago *T. castaneum* (Grafikon 6.). Također, njihov intenzitet djelovanja je bio približno uravnotežen tijekom 7 dana ekspozicije, što daje mogućnost očitavanja najveće učinkovitosti komponenata već 24 sata nakon fumigacije. Vidljivo je da komponenta eugenol nije bila učinkovita za suzbijanje testiranog stadija.



Grafikon 6. Mortalitet (%) imaga *T. castaneum* po komponentama prosječno za sve koncentracije u tretmanu fumigacije sa zrnom

3.2.1.3. Usporedba tretmana fumigacije

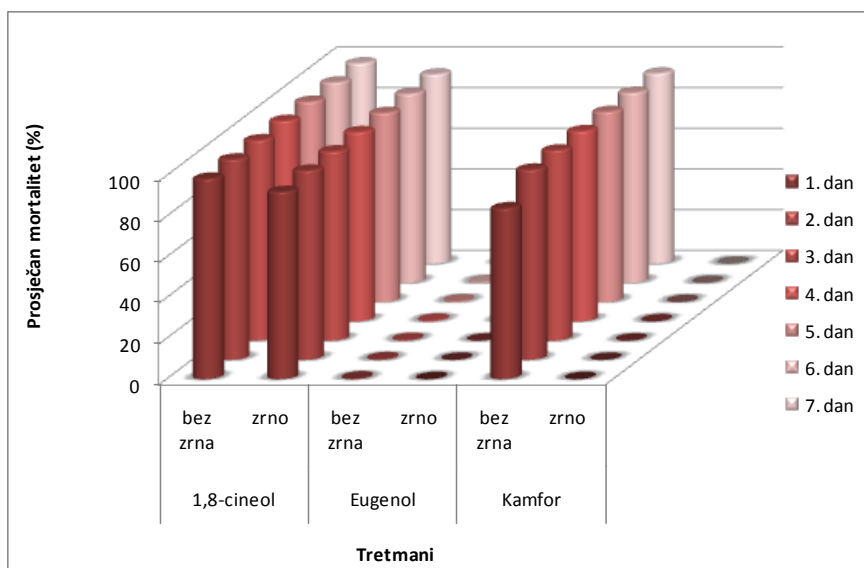
Usporedbom rezultata fumigacije između tretmana bez zrna i tretmana sa zrnom pšenice (Tablica 25.), vidljivo je da je kod komponente 1,8-cineol bilo značajnih razlika u mortalitetu testiranog imaga pri koncentraciji od 120 μl 350 ml^{-1} ($F=21,09$; $df=1$; $p<0,0001$). Stoga ova komponenta ima bolju preporuku za kontrolu imaga *T. castaneum* u praznom prostoru, nego u prostoru ispunjenom zrnom pšenice, u kojem je njegova učinkovitost značajno smanjena.

Tukey's testom, $\alpha=0,01$ je kod eugenola utvrđena značajnost u učinkovitosti između dva tretmana fumigacije, no obzirom da je u tretmanu u ispunjenom prostoru mortalitet bio 0,00%, a u tretmanu bez zrna tek 0,50%, ova komponenta općenito nije učinkovita za suzbijanje imaga testiranog štetnika. Iz Grafikona 6. vidljivo je da učinkovitost kamfora značajno ovisi o uvjetima pod kojima se fumigacija obavlja. Naime, u ispunjenom prostoru zrnom pšenice kamfor nema letalno djelovanje, te bi se fumigacija kamforom, u svrhu suzbijanja imaga *T. castaneum*, mogla primijeniti samo za prazne skladišne prostore.

Tablica 25. Učinkovitost komponenata na mortalitet imaga *T. castaneum* pri koncentraciji od 120 μl 350 ml^{-1} vol. ovisno o tretmanu fumigacije

Tretman	Mortalitet imaga <i>T. castaneum</i> (%)*						
	Ekspozicija (dani)						
	1	2	3	4	5	6	7
	1,8-cineol						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Bez zrna	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a	98,50 \pm 1,50a
Sa zrnom	92,00 \pm 3,33b	93,00 \pm 3,31b	93,00 \pm 3,31b	93,00 \pm 3,31b	93,00 \pm 3,31b	93,00 \pm 3,31b	93,00 \pm 3,31b
	Eugenol						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Bez zrna	0,50 \pm 0,50a	0,50 \pm 0,50a	0,50 \pm 0,50a	0,50 \pm 0,50a	0,50 \pm 0,50a	0,50 \pm 0,50a	0,50 \pm 0,50a
Sa zrnom	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b
	Kamfor						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Bez zrna	90,50 \pm 3,94a	93,00 \pm 3,51a	93,50 \pm 3,20a	93,50 \pm 3,20a	93,50 \pm 3,20a	93,50 \pm 3,20a	93,50 \pm 3,20a
Sa zrnom	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,01$; usporedba je za svaku komponentu po kolonama



Grafikon 6. Usporedba utjecaja tretmana fumigacije (bez zrna i sa zrnom pšenice) na učinkovitost komponenata pri koncentraciji od 120 µl 350 ml⁻¹vol.

3.2.2. Stadij ličinke kestenjastog brašnjara *Tribolium castaneum* (Herbst)

3.2.2.1. Tretman fumigacije u praznom prostoru

Ispitivanje fumigantne učinkovitosti 1,8-cineola, eugenola i kamfora na stadij ličinki *T. castaneum* rezultiralo je različitom osjetljivošću testiranih jedinki ovisno o primijenjenoj komponenti i koncentraciji. Nakon sedam dana ekspozicije, prosječni mortalitet ličinki kretao se u rasponu od 6,5% (eugenol pri 30 µl 350 ml⁻¹vol.) do 84,0% (1,8-cineol pri 120 µl 350 ml⁻¹vol.). Između pojedinih komponenata, Tukey's testom je utvrđena statistički značajna razlika u mortalitetu ličinki ($F=175,66$; $df=2$, $p<0,0001$; $R^2=0,58$). Među komponentama, po učinkovitosti se ističe 1,8-cineol s najvišim prosječnim mortalitetom od 65,50%, slijedi kamfor s 45,66%, te eugenol s prosječnim mortalitetom od 30,00%, nakon 7. dana ekspozicije testiranih ličinki (Tablica 26.). Komponenta 1,8-cineol je u sve tri aplicirane koncentracije imala značajno viši mortalitet od eugenola, te kamfora na 30 i 120 µl 350 ml⁻¹vol., odnosno prva 4 dana na koncentraciji od 60 µl 350 ml⁻¹vol. (Tukey's test, $\alpha=0,05$). Eugenol, kao najmanje efektivna komponenta, imala je statistički niži mortalitet i od kamfora pri dvije niže koncentracije (30 i 60 µl 350 ml⁻¹vol.), odnosno pri najvišoj koncentraciji (120 µl 350 ml⁻¹vol.) do 4. dana ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$).

Tablica 26. Fumigantna učinkovitost komponenata u tretmanu bez zrna na ličinke *T. castaneum* tijekom sedam dana ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Komponenta	Mortalitet ličinki <i>T. castaneum</i> (%)*						
	Ekspozicija (dani)						
	1	2	3	4	5	6	7
	Konzentracija 30 μl 350 ml^{-1}						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	44,00 \pm 2,16a	44,50 \pm 2,06a	45,00 \pm 2,08a	45,00 \pm 2,08a	45,00 \pm 2,08a	45,00 \pm 2,08a	45,00 \pm 2,08a
Eugenol	1,00 \pm 1,00b	2,50 \pm 1,50b	5,00 \pm 2,06b	6,50 \pm 2,36b	6,50 \pm 2,36b	6,50 \pm 2,36b	6,50 \pm 2,36b
Kamfor	32,00 \pm 4,69c	33,50 \pm 5,18a	34,00 \pm 5,59a	34,00 \pm 5,59a	34,00 \pm 5,59a	34,0 \pm 5,59a	34,0 \pm 5,59a
	Konzentracija 60 μl 350 ml^{-1}						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	61,00 \pm 3,87a	63,00 \pm 3,69a	64,50 \pm 3,59a	66,00 \pm 4,08a	67,00 \pm 4,65a	67,00 \pm 4,65a	67,50 \pm 4,99a
Eugenol	18,50 \pm 2,50b	22,50 \pm 2,98b	27,00 \pm 3,10b	30,50 \pm 3,59b	33,50 \pm 4,99b	35,50 \pm 5,56b	35,50 \pm 5,56b
Kamfor	34,00 \pm 3,55c	39,00 \pm 4,12c	44,00 \pm 4,83c	46,00 \pm 4,76b	48,50 \pm 4,78ba	48,50 \pm 4,78ba	48,50 \pm 4,78ba
	Konzentracija 120 μl 350 ml^{-1}						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	83,50 \pm 2,55a	84,00 \pm 2,16a	84,00 \pm 2,16a	84,00 \pm 2,16a	84,00 \pm 2,16a	84,00 \pm 2,16a	84,00 \pm 2,16a
Eugenol	14,00 \pm 3,65b	21,00 \pm 4,20b	25,50 \pm 4,57b	31,00 \pm 4,50b	40,00 \pm 4,54b	44,00 \pm 4,24b	48,00 \pm 5,22b
Kamfor	25,00 \pm 3,31c	31,50 \pm 3,30b	38,50 \pm 2,50c	42,50 \pm 2,66b	47,50 \pm 2,98b	49,00 \pm 3,69b	54,50 \pm 3,77b
	Prosjek po svim koncentracijama						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	62,83 \pm 0,67	63,83 \pm 0,70	64,50 \pm 0,65	65,00 \pm 0,87	65,33 \pm 1,12	65,33 \pm 1,12	65,50 \pm 1,27
Eugenol	11,16 \pm 0,92	15,33 \pm 0,92	19,16 \pm 0,88	22,66 \pm 0,74	28,00 \pm 1,06	28,00 \pm 1,12	30,00 \pm 1,34
Kamfor	30,33 \pm 0,56	34,66 \pm 0,65	38,83 \pm 1,20	40,83 \pm 1,11	43,16 \pm 0,98	43,83 \pm 0,66	45,66 \pm 0,62

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

Mortalitet ličinki se pri testiranim koncentracijama 1,8-cineola značajno razlikovao od mortaliteta kontrole bez aplikacije ulja (Tablica 27.). Osim toga, svakim porastom koncentracije, statistički je zabilježen porast mortaliteta ($F=1519,45$; $df=3$; $p<0,0001$; $R^2=0,97$), stoga bi opravdana koncentracija 1,8-cineola za suzbijanje *T. castaneum* u stadiju ličinki bila 120 μl 350 ml^{-1} vol., kojom se postigao maksimalan prosječni mortalitet od 83,90% nakon 7. dana ekspozicije. Iz iste tablice vidljiva je značajna razlika u mortalitetu između kontrole i eugenola pri dvije više koncentracije (60 i 120 μl 350 ml^{-1} vol.) ($F=89,41$; $df=3$; $p<0,0001$; $R^2=0,71$). Obzirom da između njih nije zabilježena statistička razlika (Tukey's test, $\alpha=0,05$), opravdana koncentracija eugenola za kontrolu ličinki bi bila 60 μl 350 ml^{-1} vol., s prosječnim mortalitetom od 35,50% nakon 7. dana ekspozicije.

Tablica 27. Fumigantna učinkovitost 1,8-cineola i eugenola s kontrolom u tretmanu bez zrna na ličinke *T. castaneum* 7. dan ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Koncentracija ($\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$)	Mortalitet ličinki <i>T. castaneum</i> (%)*	
	1,8-cineol $\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	Eugenol $\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
30	44,78 \pm 0,70c	5,00 \pm 0,80b
60	65,14 \pm 1,48b	29,0 \pm 1,83a
120	83,92 \pm 0,73a	31,92 \pm 2,68a
Kontrola 0	1,21 \pm 0,29d	1,21 \pm 0,29b

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je po kolonama

Učinkovitost kamfora je značajno viša pri sve tri koncentracije u odnosu na njima pripadajuće kontrole s etanolom (Tukey's test, $\alpha=0,05$) (Tablica 28.).

Tablica 28. Fumigantna učinkovitost kamfora i kontrola u tretmanu bez zrna na ličinke *T. castaneum* 7. dan ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Komponenta/ kontrola	Mortalitet ličinki <i>T. castaneum</i> (%)* Koncentracija ($\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$)		
	30 $\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	60 $\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	120 $\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Kamfor	33,64 \pm 1,81a	44,07 \pm 1,81a	41,20 \pm 2,13a
Kontrola ¹	4,00 \pm 0,37b	5,92 \pm 0,26b	7,28 \pm 0,58b

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je po kolonama

¹Kontrola s etanolom koncentracija 15, 30 i 60 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$ vol.

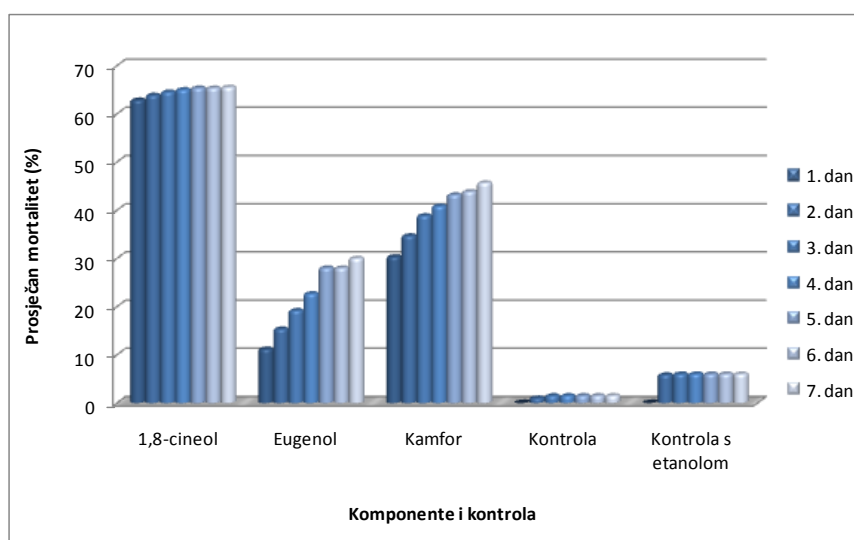
Pri najnižoj koncentraciji kamfora (30 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$ vol.) postignut je značajno niži mortalitet ličinki u odnosu na dvije više koncentracije (60 i 120 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$ vol.) (Tablica 29.). Kako između dvije više koncentracije nije bilo značajnih razlika u mortalitetu, opravdana koncentracija kamfora koja bi se mogla primijeniti za kontrolu ličinki *T. castaneum* bi bila 60 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$ vol. No i pored toga, vrijednost mortaliteta od 44,07%, postignut pri ovoj koncentraciji, je nedovoljna za uspješno suzbijanje ličinki *T. castaneum*.

Tablica 29. Fumigantna učinkovitost kamfora po koncentracijama u tretmanu bez zrna na ličinke *T. castaneum* 7. dan ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Koncentracija $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$	Kamfor* $\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
30	33,64 \pm 1,81b
60	44,07 \pm 1,81a
120	41,21 \pm 2,13a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je po kolonama

Komponenta 1,8-cineol je imala relativno brzo početno djelovanje na ličinke *T. castaneum*. Naime, već 1. dana nakon fumigacije pokazala je određeno letalno djelovanje, koje je bilo ujednačeno tijekom 7 dana pregleda (Grafikon 7.), što daje mogućnost očitavanja njegove ukupne učinkovitosti već 24 sata nakon fumigacije. Za razliku od prve komponente, eugenol i kamfor pokazuju lagani porast učinkovitosti, tijekom svih 7 dana pregleda mortaliteta ispitivanih ličinki, stoga bi se njihova učinkovitost trebala očitati na kraju pregleda.



Grafikon 7. Mortalitet (%) ličinki *T. castaneum* po komponentama prosječno za sve koncentracije u tretmanu fumigacije bez zrna

3.2.2.2. **Tretman fumigacije u prostoru ispunjenom zrnom pšenice**

Testiranje fumigantne učinkovitosti 1,8-cineola, eugenola i kamfora na stadij ličinki *T. castaneum* rezultiralo je različitom osjetljivošću testiranih jedinki ovisno o primijenjenoj komponenti i koncentraciji. Nakon sedam dana ekspozicije, prosječni mortalitet ličinki kretao se u rasponu od 1,50% (eugenol pri 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$) do 68,50% (kamfor pri 600 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$). Između pojedinih komponenata, Tukey's testom je utvrđena statistički značajna razlika u mortalitetu ličinki ($F=81,53$; $df=2$; $p<0,0001$; $R^2=0,39$). Među komponentama, po učinkovitosti se ističe kamfor s najvišim prosječnim mortalitetom od 64,66%, slijedi 1,8-cineol s 39,50%, te eugenol s prosječnim mortalitetom od 16,00%, nakon 7. dana ekspozicije testiranih ličinki (Tablica 30.). Komponenta 1,8-cineol je u sve tri testirane koncentracije imala najbrže početno djelovanje, sa značajno višim mortalitetom ličinki u odnosu na kamfor i eugenol. Kamfor je imao sporije djelovanje te je statistički viši mortalitet (47,00%, odnosno 52,00%), u odnosu na 1,8-cineol, postignut 5. dan ekspozicije pri koncentracijama od 120 i 300 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ Pri najvišoj koncentraciji (600 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$) 1,8-cineol je također početno imao značajno veću učinkovitost u odnosu na ostala dva ulja. Djelotvornost kamfora se od 3. dana pa sve do kraja ekspozicije, nije značajno razlikovao u odnosu na 1,8-cineol. Komponenta eugenol, s prosječno najslabijom djelotvornošću, tek je 5. dana ekspozicije pri najvišoj koncentraciji (600 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$) rezultirala mortalitetom u rangu visoke učinkovitosti.

Tablica 30. Fumigantna učinkovitost komponenata u tretmanu sa zrnom na ličinke *T. castaneum* tijekom sedam dana ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Komponenta	Mortalitet ličinki <i>T. castaneum</i> (%)*						
	Ekspozicija (dani)						
	1	2	3	4	5	6	7
Koncentracija 120 μl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	22,00 \pm 2,94a	24,00 \pm 6,55a	24,00 \pm 6,55a	24,00 \pm 6,55a	24,00 \pm 6,55b	24,00 \pm 6,55b	24,00 \pm 6,55b
Eugenol	1,00 \pm 0,57b	1,00 \pm 0,57b	1,50 \pm 0,95b	1,50 \pm 0,95b	1,50 \pm 0,95c	1,50 \pm 0,95c	1,50 \pm 0,95c
Kamfor	6,00 \pm 2,16b	6,00 \pm 2,16a	21,50 \pm 3,31a	36,00 \pm 4,54a	47,00 \pm 4,43a	52,00 \pm 3,74a	61,00 \pm 3,41a
Koncentracija 300 μl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	39,50 \pm 4,19a	41,00 \pm 4,12a	41,00 \pm 4,12a	41,0 \pm 4,12a	41,00 \pm 4,12b	41,00 \pm 4,12b	41,00 \pm 4,12b
Eugenol	1,00 \pm 1,00b	1,50 \pm 0,95b	1,50 \pm 0,95c	1,50 \pm 0,95b	1,50 \pm 0,95c	1,50 \pm 0,95c	1,50 \pm 0,95c
Kamfor	9,00 \pm 1,91b	19,50 \pm 3,50c	25,50 \pm 3,50b	37,00 \pm 2,35a	52,00 \pm 2,00a	59,50 \pm 0,95a	64,50 \pm 2,21a
Koncentracija 600 μl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	47,50 \pm 5,56a	52,50 \pm 6,55a	53,50 \pm 6,29a	53,50 \pm 6,29a	53,50 \pm 6,29a	53,50 \pm 6,29a	53,50 \pm 6,29a
Eugenol	7,50 \pm 3,86b	16,00 \pm 4,83b	24,00 \pm 6,00b	31,50 \pm 4,85b	37,00 \pm 4,50a	43,00 \pm 4,38a	45,00 \pm 2,08b
Kamfor	23,50 \pm 2,21b	30,50 \pm 2,21b	35,50 \pm 1,89ba	44,50 \pm 3,09ba	51,00 \pm 2,08a	58,00 \pm 1,15a	68,50 \pm 1,25a
Prosjeck po svim koncentracijama							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	36,33 \pm 0,88	39,16 \pm 1,08	39,50 \pm 1,02	39,50 \pm 1,02	39,50 \pm 1,02	39,50 \pm 1,02	39,50 \pm 1,02
Eugenol	3,16 \pm 1,36	6,16 \pm 1,80	9,00 \pm 2,24	11,50 \pm 1,73	13,33 \pm 1,57	15,33 \pm 1,52	16,00 \pm 0,50
Kamfor	12,83 \pm 0,12	18,66 \pm 0,58	27,50 \pm 0,67	39,16 \pm 0,80	50,00 \pm 1,06	56,50 \pm 1,19	64,66 \pm 0,74

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

Mortalitet ličinki se pri testiranim koncentracijama 1,8-cineola značajno razlikovao od mortaliteta kontrole bez aplikacije ulja (Tablica 31.). Osim toga, svakim porastom koncentracije, statistički je zabilježen porast mortaliteta ($F=254,34$; $df=3$; $p<0,0001$; $R^2=0,87$), stoga bi opravdana koncentracija 1,8-cineola za suzbijanje *T. castaneum* u stadiju ličinki bila 600 μl 350 ml⁻¹vol., kojom se postigao prosječni mortalitet od 52,50% nakon 7. dana ekspozicije. Iz iste tablice vidljiva je značajna razlika u mortalitetu između kontrole i eugenola tek pri najvišoj koncentraciji (600 μl 350 ml⁻¹ vol.) ($F=90,64$; $df=3$; $p<0,0001$; $R^2=0,71$), stoga bi ova koncentracija bila opravdana za kontrolu ličinki. Usprkos tome, kamfor nema opravdanje za primjenu u praksi, jer je postignuti mortalitet (29,14%) nedovoljan za uspješnu kontrolu.

Tablica 31. Fumigantna učinkovitost 1,8-cineola i eugenola s kontrolom u tretmanu sa zrnom na ličinke *T. castaneum* 7. dan ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Koncentracija ($\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$)	Mortalitet ličinki <i>T. castaneum</i> (%)*	
	1,8-cineol $\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	Eugenol $\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
120	23,71 \pm 1,16c	1,35 \pm 0,29b
300	40,78 \pm 1,38b	1,42 \pm 0,32b
600	52,50 \pm 2,11a	29,14 \pm 2,87a
Kontrola 0	1,14 \pm 0,29d	1,14 \pm 0,29b

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je po kolonama

Učinkovitost kamfora je značajno viša pri sve tri koncentracije u odnosu na njima pripadajuće kontrole s etanolom (Tukey's test, $\alpha=0,01$) (Tablica 32.), a između koncentracija kamfora nije bilo značajnosti ($F=2,12$; $df=2$; $p=0,126$) (Tablica 33.). Stoga bi opravdana koncentracija za kontrolu testiranih ličinki bila $120 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$ vol.

Tablica 32. Fumigantna učinkovitost kamfora i kontrola u tretmanu sa zrnom na ličinke *T. castaneum* 7. dan ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Komponenta/ kontrola	Mortalitet ličinki <i>T. castaneum</i> (%)*		
	Koncentracija ($\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$)		
	120 $\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	300 $\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	600 $\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Kamfor	34,21 \pm 3,81a	38,14 \pm 3,87a	44,50 \pm 2,91a
Kontrola ¹	16,85 \pm 2,04b	17,57 \pm 2,00b	27,00 \pm 1,85b

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je po kolonama

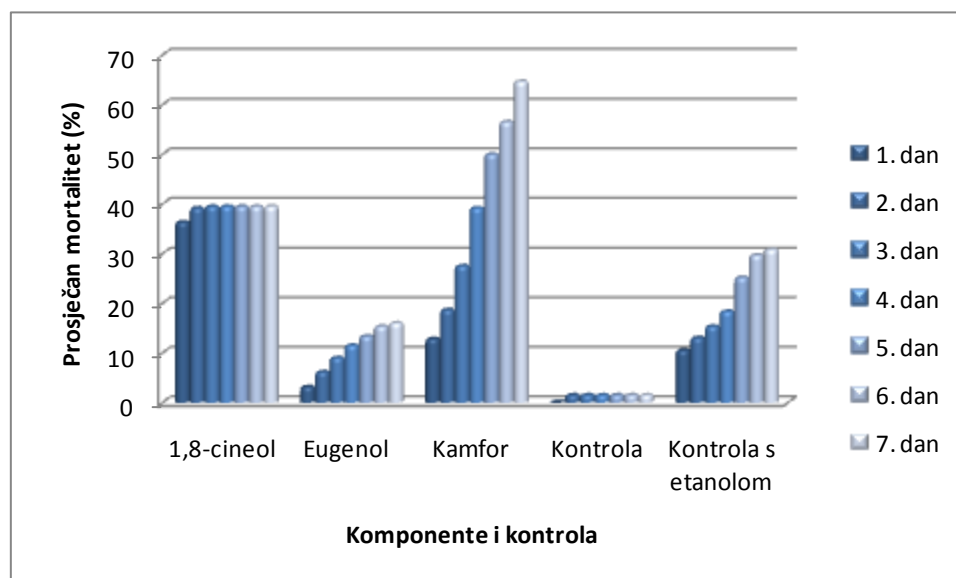
¹Kontrola s etanolom koncentracija 60, 150 i 300 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$ vol.

Tablica 33. Fumigantna učinkovitost kamfora po koncentracijama u tretmanu sa zrnom na ličinke *T. castaneum* 7. dan ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Koncentracija $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$	Kamfor* $\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
120	34,21 \pm 3,81a
300	38,14 \pm 3,87a
600	44,50 \pm 2,91a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je po kolonama

Prosječno, komponenta 1,8-cineol je imala relativno brzo početno i ujednačeno djelovanje tijekom 7 dana ekspozicije na mortalitet ličinki *T. castaneum* (Grafikon 8.), što daje mogućnost očitavanja njegove ukupne učinkovitosti već 24 sata nakon fumigacije. Za razliku od 1,8-cineola, eugenol i kamfor pokazuju porast učinkovitosti tijekom 7 dana, stoga se njihova učinkovitost na ličinke očituje sporim početnim, a izraženim kumulativnim djelovanjem.



Grafikon 8. Mortalitet (%) ličinki *T. castaneum* po komponentama prosječno za sve koncentracije u tretmanu fumigacije sa zrnom

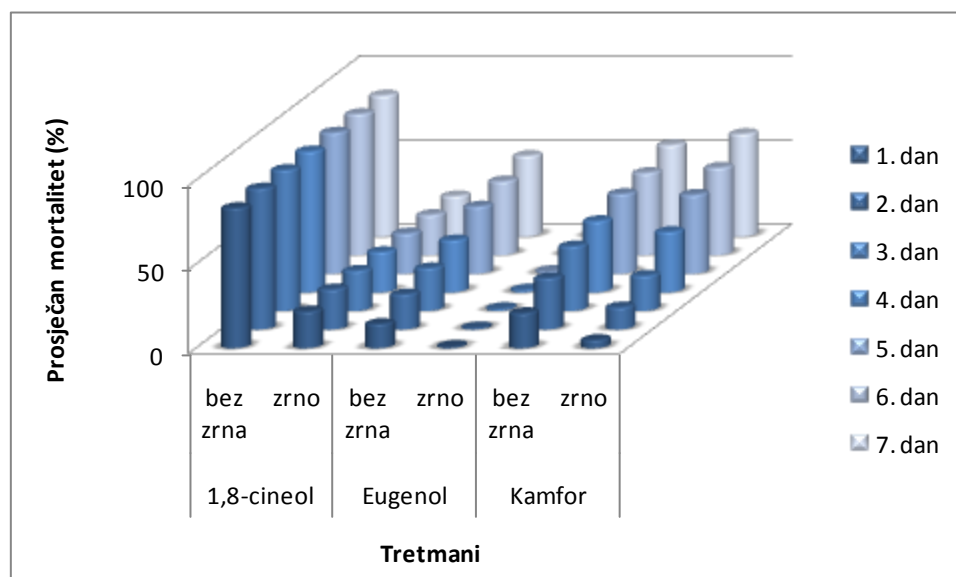
3.2.2.3. Usporedba tretmana fumigacije

Usporedbom rezultata različitih tretmana fumigacije uočava se značajan utjecaj tretmana na učinkovitost testiranih komponenata (Tablica 34.) U tretmanu sa zrnom pšenice prodornost para 1,8-cineola je smanjena što je rezultiralo značajno manjim mortalitetom 16 dana starih ličinki (84,00% - mortalitet 7. dan ekspozicije u tretmanu bez zrna; 24,00% - mortalitet 7. dan ekspozicije u tretmanu sa zrnom) (Tukey's test, $\alpha=0,05$). Također i eugenol je imao značajno manju učinkovitost u tretmanu sa zrnom (48,00% - mortalitet 7. dana u tretmanu bez zrna; 1,50% - 7. dana u tretmanu sa zrnom) (Tukey's test, $\alpha=0,05$). Učinkovitost kamfora je bila značajno smanjena u tretmanu bez zrna ali tek prva tri dana pregleda mortaliteta. Kasnije, nije bilo značajnijeg utjecaja na njegovo djelovanje (Grafikon 9.).

Tablica 34. Učinkovitost komponenata na mortalitet ličinki *T. castaneum* pri koncentraciji od 120 μl 350 ml^{-1} vol. ovisno o tretmanu fumigacije

Tretman	Mortalitet ličinki <i>T. castaneum</i> (%)*						
	Ekspozicija (dani)						
	1	2	3	4	5	6	7
1,8-cineol							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Bez zrna	83,50±2,50a	84,00±2,16a	84,00±2,16a	84,00±2,16a	84,00±2,16a	84,00±2,16a	84,00±2,16a
Sa zrnom	22,00±2,94b	24,00±3,55b	24,00±3,55b	24,00±3,55b	24,00±3,55b	24,00±3,55b	24,00±3,55b
Eugenol							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Bez zrna	14,50±3,65a	21,00±4,20a	25,50±4,57a	31,00±4,50a	40,00±4,54a	44,00±4,24a	48,00±5,22a
Sa zrnom	1,00±0,57b	1,00±0,57b	1,50±0,95b	1,50±0,95b	1,50±0,95b	1,50±0,95b	1,50±0,95b
Kamfor							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Bez zrna	21,00±3,00a	30,60±2,51a	38,50±2,50a	42,50±2,62a	47,50±2,98a	49,00±3,69a	54,50±3,77a
Sa zrnom	5,00±1,00b	13,33±2,99b	21,00±3,31b	36,00±4,54a	47,00±4,43a	52,00±3,74a	61,00±6,32a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama



Grafikon 9. Usporedba utjecaja tretmana fumigacije (bez zrna i sa zrnom pšenice) na učinkovitost komponenata pri koncentraciji od 120 µl 350 ml⁻¹vol.

3.2.3. Stadij kukuljice kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst) muškog spola

3.2.3.1. Tretman fumigacije u praznom prostoru

Nakon testiranja fumigantne učinkovitosti 1,8-cineola, kamfora i eugenola u tretmanu bez zrna, testirane kukuljice *T. castaneum* muškog spola pokazale su različitu osjetljivost ovisno o apliciranoj komponenti i koncentraciji. Pri najnižoj koncentraciji (30 µl 350 ml⁻¹vol.), po učinkovitosti se ističe komponenta 1,8-cineol, rezultirajući: značajno većim postotkom kukuljica u stadiju 0 (16,25% ; F=11,79; df=2; p=0,0031), te značajno manjim brojem imaga koji su se razvili iz preživjelih tretiranih kukuljica (36,25% - živih jedinki u stadiju 3; F=16,27; df=2; p=0,0010), u odnosu na eugenol i kamfor (Tablica 35.). Između eugenola i kamfora nije bilo opravdanih razlika u djelovanju na kukuljice. Komponente 1,8-cineol i kamfor su pri koncentraciji od 30 µl 350 ml⁻¹vol. utjecale i na mortalitet jedinki imaga koje su se razvile iz tretiranih preživjelih kukuljica (13,75% - uginulih jedinki u stadiju 3; odnosno 3,75% - uginulih jedinki u stadiju 3). Povećanjem koncentracije sa 30 na 60 i 120 µl 350 ml⁻¹vol, pojačan je i učinak; i to značajnije kod 1,8-cineola u odnosu na kamfor i eugenol (značajno manji postotak živih jedinki u stadiju 3 – pri 60 µl 350 ml⁻¹vol. (F=31,17; df=2; p<0,0001) i 120 µl 350 ml⁻¹vol. (F=31,79; df=2;

$p < 0,0001$), te značajno više uginulih kukuljica u stadiju 0 – pri 120 μl 350 ml^{-1}vol . ($F=49,88$; $df=2$; $p < 0,0001$). Značajno bolji učinak kamfora u odnosu na eugenol, postignut je pri višim koncentracijama (60 i 120 μl 350 ml^{-1}vol .), i to izraženo u značajno većem postotku uginulih kukuljica u stadiju 0 (pri 60 μl 350 ml^{-1}vol . $F=15,49$; $df=2$; $p=0,0012$), značajno većem postotku uginulih jedinki u stadiju 1 (pri 120 μl 350 ml^{-1}vol . $F=4,63$; $df=2$; $p=0,0415$), te značajno manjem postotku živih jedinki u stadiju 3 (pri 60 μl 350 ml^{-1}vol . $F=32,17$; $df=2$; $p < 0,0001$ i 120 μl 350 ml^{-1}vol . $F=31,79$; $df=2$; $p < 0,0001$).

Tablica 35. Fumigantna učinkovitost komponenata u tretmanu bez zrna na kukuljice *T. castaneum* muškog spola (Tukey's test, $\alpha=0,05$) (skala po Mandavi, 1985)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*							
Komponenta	Razvojni stadij						
	Stadij 0		Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
Koncentracija 30 μl 350 ml^{-1}							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	16,25 \pm 4,73a	12,50 \pm 5,20a	13,75 \pm 6,88a	5,00 \pm 3,53a	2,50 \pm 2,50a	36,25 \pm 3,75b	13,75 \pm 5,15a
Eugenol	0,00 \pm 0,00b	6,25 \pm 3,75a	1,25 \pm 1,25a	6,25 \pm 2,39a	7,50 \pm 3,22a	80,00 \pm 5,40a	0,00 \pm 0,00b
Kamfor	0,00 \pm 0,00b	5,00 \pm 2,04a	3,75 \pm 2,39a	1,25 \pm 1,25a	11,25 \pm 6,57a	75,00 \pm 7,90a	3,75 \pm 2,39ba
Koncentracija 60 μl 350 ml^{-1}							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	48,75 \pm 5,90a	17,50 \pm 7,50a	10,00 \pm 8,41a	5,00 \pm 3,53a	1,25 \pm 1,25a	16,25 \pm 8,00c	1,25 \pm 1,25a
Eugenol	3,75 \pm 1,25b	1,25 \pm 1,25a	1,25 \pm 1,25a	1,25 \pm 1,25a	10,00 \pm 3,53a	76,25 \pm 3,75a	6,25 \pm 3,14a
Kamfor	30,00 \pm 7,90a	5,00 \pm 2,04a	13,75 \pm 8,98a	1,25 \pm 1,44a	5,00 \pm 3,53a	42,50 \pm 2,50b	1,25 \pm 1,25a
Koncentracija 120 μl 350 ml^{-1}							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	48,75 \pm 5,90a	10,00 \pm 4,56a	11,25 \pm 3,75ba	3,75 \pm 1,25a	2,50 \pm 2,50a	2,50 \pm 1,44c	0,00 \pm 0,00a
Eugenol	0,00 \pm 0,00b	7,50 \pm 4,33a	1,25 \pm 1,25b	7,50 \pm 3,22a	10,0 \pm 6,77a	72,50 \pm 8,53a	1,25 \pm 1,25a
Kamfor	8,75 \pm 2,39b	1,25 \pm 1,25a	33,75 \pm 12,8a	3,75 \pm 1,25a	25,0 \pm 9,35a	27,50 \pm 6,61b	0,00 \pm 0,00a
Prosjeak po koncentracijama							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
1,8-cineol	37,91 \pm 0,52	13,33 \pm 1,16	11,66 \pm 1,73	4,58 \pm 1,01	2,08 \pm 0,55	18,33 \pm 2,40	5,00 \pm 2,01
Eugenol	1,25 \pm 0,55	5,00 \pm 1,24	1,25 \pm 1,25	5,00 \pm 0,69	9,16 \pm 1,50	76,25 \pm 1,75	2,50 \pm 1,11
Kamfor	12,91 \pm 2,98	3,75 \pm 0,35	17,08 \pm 3,77	1,25 \pm 0,08	13,75 \pm 1,96	48,33 \pm 2,11	1,66 \pm 0,80

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

**Sve jedinice u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Usporedbom rezultata (Tukey's test, $\alpha=0,05$) između komponenata i kontrolnih uzoraka bez aplikacije ulja (Tablica 36.), vidljivo je da 1,8-cineol pokazuje opravdanu primjenu za suzbijanje kukuljica muškog spola. Ova razlika između 1,8-cineola i kontrole bila je izražena kroz značajno veći postotak uginulih kukuljica u stadiju 0 (pri koncentracijama od 60 i 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$), te značajno manjim postotkom normalno razvijenih jedinki u stadiju 3 (pri sve tri testirane koncentracije). Između koncentracija 1,8-cineola je bilo značajnih razlika između 30 i 60 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ kod uginulih jedinki u stadiju 0 (16,25%; odnosno 48,75%; $F=19,32$; $df=3$; $p<0,0001$). Također, značajna razlika između koncentracija vidljiva je i u stadiju 3 gdje je pri 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ postignut značajno manji postotak živih jedinki (2,50%) u odnosu na koncentraciju od 30 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ (36,25%) ($F=6,37$; $df=3$; $p=0,0079$). Između koncentracija 60 i 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ nije bilo značajnih razlika u postotku živih jedinki razvijenih nakon fumigacije.

Iz iste tablice vidljivo je da eugenol nije niti pri najvišoj koncentraciji imao opravdano veći učinak u odnosu na kontrolu bez aplikacije ulja, što čini eugenol neučinkovitim za suzbijanje kukuljica *T. castaneum* muškog spola ovom metodom fumigacije.

Tablica 36. Fumigantna učinkovitost 1,8-cineola i eugenola s kontrolom u tretmanu bez zrna na kukuljice *T. castaneum* muškog spola (skala po Mandavi, 1985)

Koncentracija μl 350 ml^{-1}	Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*						
	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
1,8-cineol							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
30	16,25±4,73b	12,50±5,20a	13,75±6,88a	5,00±3,53a	2,50±2,50a	36,25±3,75b	13,75±5,15a
60	48,75±5,90a	17,50±7,50a	10,00±8,41a	5,00±3,53a	1,25±1,25a	16,25±8,00cb	1,25±1,25b
120	48,75±5,90a	10,00±4,56a	11,25±3,75a	3,75±1,25a	2,50±2,50a	2,50±1,44c	0,00±0,00b
0	5,00±3,53b	3,75±2,39a	1,25±1,25a	6,25±3,75a	0,00±0,00a	83,75±7,18a	0,00±0,00b
Eugenol							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
30	0,00±0,00a	6,25±3,75a	1,25±1,25a	6,25±2,39a	7,50±3,22a	80,00±5,40a	0,00±0,00a
60	3,75±1,25a	1,25±1,25a	1,25±1,25a	1,25±1,25a	10,00±6,77a	76,25±3,75a	6,25±3,14a
120	0,00±0,00a	7,5±4,33a	1,25±1,25a	7,50±3,22a	10,00±3,53a	72,50±8,53a	1,25±1,25a
0	5,00±3,53a	3,75±2,39a	1,25±1,25a	6,25±3,75a	0,00±0,00a	83,75±7,18a	0,00±0,00a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za svaku komponentu po kolonama

**Sve jedinice u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

U sporedbom učinkovitosti kamfora u odnosu na kontrolu s etanolom, opravdana razlika se uočava tek pri najvišoj koncentraciji (120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$) i to u značajno većem prosječnom postotku uginulih jedinki u stadiju 2 (Tablica 37.). Također, uočen je značajan toksični utjecaj etanola na mortalitet tretiranih kukuljica pri koncentraciji od 30 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ (21,25% $F=45,63$; $df=1$; $p=0,0005$) u odnosu na pripadajuću koncentraciju kamfora. Stoga kako bi se otklonio utjecaj etanola, za tretiranje kukuljica muškog spola trebala bi se koristiti najviša koncentracija kamfora (120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$).

Tablica 37. Fumigantna učinkovitost kamfora s kontrolom u tretmanu bez zrna na kukuljice *T. castaneum* muškog spola (skala po Mandavi, 1985)

Komponenta	Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*						
	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	
Koncentracija 30 μl 350 ml^{-1}							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Kamfor	0,00 \pm 0,00b	5,00 \pm 2,04a	3,75 \pm 2,39a	1,25 \pm 1,25a	11,25 \pm 6,57a	75,00 \pm 7,90a	3,75 \pm 2,39a
Kontrola ¹	21,25 \pm 3,14a	6,25 \pm 2,39a	7,50 \pm 3,22a	1,25 \pm 1,25a	0,00 \pm 0,00a	63,75 \pm 3,14a	0,00 \pm 0,00a
Koncentracija 60 μl 350 ml^{-1}							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Kamfor	30,00 \pm 7,90a	11,25 \pm 1,25a	13,75 \pm 8,98a	2,50 \pm 1,44a	5,00 \pm 3,53a	42,50 \pm 2,50a	1,25 \pm 1,25a
Kontrola ²	18,75 \pm 6,25a	5,00 \pm 2,04a	8,75 \pm 2,39a	2,50 \pm 1,44a	0,00 \pm 0,00a	58,75 \pm 3,14a	0,00 \pm 0,00a
Koncentracija 120 μl 350 ml^{-1}							
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Kamfor	8,75 \pm 2,39a	1,25 \pm 1,25a	33,75 \pm 12,8a	3,75 \pm 1,25a	25,00 \pm 9,35a	27,50 \pm 6,61a	0,00 \pm 0,00a
Kontrola ³	40,00 \pm 7,35a	11,25 \pm 4,26a	8,75 \pm 7,18a	3,75 \pm 1,25a	1,25 \pm 1,25b	35,00 \pm 2,04a	0,00 \pm 0,00a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

**Sve jedinice u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

¹Kontrola s etanolom koncentracije 15 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$

²Kontrola s etanolom koncentracije 30 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$

³Kontrola s etanolom koncentracije 60 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$

Iz svega navedenog, može se zaključiti da je toksičnost 1,8 cineola, kamfora i eugenola na kukuljice muškog spola, u metodi fumigacije bez zrna pšenice, bila izražena na dva načina. Kao prvo letalno, na jedinice u stadiju kukuljice, te je tako onemogućen njihov daljnji razvoj. Postotak uginulih u stadiju 0 kretao se u rasponu od 1,25 do 37,91%, ovisno o komponenti. Kao drugi nači djelovanja komponenata, zabilježen je utjecaj na ometanje normalnog razvoja kukuljica u imago, stvarajući „adultoid“ jedinice (Slika 15.), ali ne statistički značajno, kao i deformirane jedinice koje su se iz tretiranih preživjelih jedinki razvile u imago (značajno samo kod kamfora). Postotak „adultoid“ jedinki u stadiju 1

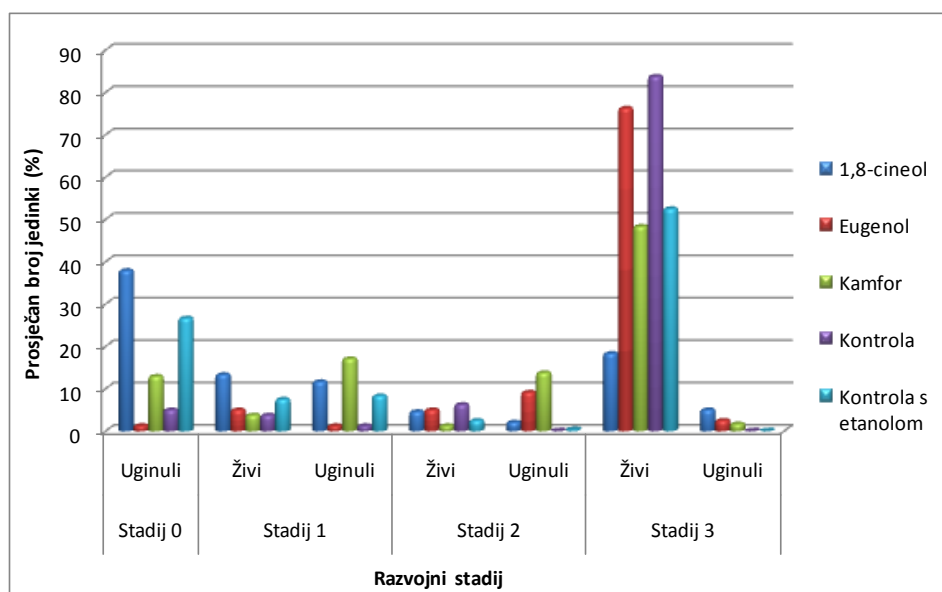
kretao se u rasponu od 5,00% do 13,33%, (živih), te 1,25% do 11,66% (uginulih), dok se postotak deformiranih jedinki u stadiju 2 kretao u rasponu od 1,25% do 5,00 (živih), odnosno 2,08% do 13,75% (uginulih) ovisno o komponenti. Ove deformacije su bile slabije ili jače izražene na pokrildu razvijenog imaga (Slika 16.). Sve ukupno, najbolje djelovanje je ostvareno 1,8-cineolom, zatim kamforom, dok s eugenolom nije postignut zadovoljavajući učinak na testirane kukuljice (Grafikon 10.).



Slika 15. „Adultoid“ jedinke *T. castaneum*
(Foto: A. Liška)



Slika 16. Deformacije na pokrildu imaga
T. castaneum
(Foto: A. Liška)



Grafikon 10. Učinkovitost komponentata na stadij kukuljice muškog spola prosječno za sve koncentracije u tretmanu fumigacije bez zrna

3.2.3.2. Tretman fumigacije u prostoru ispunjenom zrnom pšenice

Fumigacijom kukuljica *T. castaneum* muškog spola, zabilježene su statistički opravdane razlike (Tukey's test, $\alpha=0,05$) u učinkovitosti između 1,8-cineola, kamfora i eugenola (Tablica 38.) Pri najnižoj koncentraciji ($120 \mu\text{l}$ $350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$) najbolje djelovanje ostvareno je s 1,8-cineolom, koje je bilo izraženo u značajno većem postotku uginulih kukuljica u stadiju 0 (30,00%; $F=22,07$; $df=2$; $p=0,0003$), te u značajno manjem postotku živih jedinki u stadiju 3 (56,25%; $F=13,37$; $df=2$; $p=0,002$), u odnosu na eugenol i kamfor. Pri istoj koncentraciji između eugenola i kamfora bilo je značajnih razlika samo u postotku uginulih „adultoid“ jedinki u stadiju 1 (16,25%; odnosno 5,00% - Tukey's test, $\alpha=0,05$). Povišenjem koncentracije sa 120 na 300 i 600 μl $350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$, 1,8-cineol je zadržao najbolje djelovanje u odnosu na ostale dvije komponente, također izraženo značajno većim postotkom uginulih kukuljica u stadiju 0, te značajnim smanjenjem normalno razvijenih živih jedinki u stadiju 3. Osim, toga pri koncentraciji od 300 μl $350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$, fumigacija 1,8- cineolom je rezultirala značajno većim postotkom živih jedinki s deformacijama u odnosu na eugenol i kamfor (22,50%; 2,50% i 6,25%; $F=12,76$; $df=2$; $p=0,0024$). Kao i značajno većim postotkom uginulih jedinki u stadiju 1 (37,50%; 2,50%; 2,50%; $F=18,97$; $df=2$; $p=0,0006$) pri najvišoj koncentraciji ($120 \mu\text{l}$ $350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$). Između eugenola i kamfora nije bilo opravdanih razlika u učinkovitosti na kukuljice muškog spola u metodi fumigacije sa zrnom.

Tablica 38. Fumigantna učinkovitost komponenata u tretmanu sa zrnom na kukuljice *T. castaneum* muškog spola (Tukey's test, $\alpha=0,05$) (skala po Mandavi, 1985)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*							
Komponenta	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
Koncentracija 120 μl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
1,8-cineol	30,00 \pm 3,53a	0,00 \pm 0,00a	6,25 \pm 3,14b	3,75 \pm 2,39a	3,75 \pm 3,75a	56,25 \pm 5,15b	0,00 \pm 0,00a
Eugenol	2,50 \pm 2,50b	0,00 \pm 0,00a	16,25 \pm 1,25a	0,00 \pm 0,00a	2,50 \pm 2,50a	78,75 \pm 3,75a	0,00 \pm 0,00a
Kamfor	7,50 \pm 3,22b	1,25 \pm 1,25a	5,00 \pm 2,04b	0,00 \pm 0,00a	0,00 \pm 0,00a	86,25 \pm 3,75a	1,25 \pm 1,25a
Koncentracija 300 μl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
1,8-cineol	23,75 \pm 3,75a	0,00 \pm 0,00a	12,50 \pm 3,22a	22,50 \pm 3,22a	6,25 \pm 1,25a	31,25 \pm 2,39b	3,75 \pm 2,39a
Eugenol	3,75 \pm 2,39b	0,00 \pm 0,00a	11,25 \pm 4,26a	2,50 \pm 1,44b	2,50 \pm 2,5a	80,0 \pm 2,04a	0,00 \pm 0,00a
Kamfor	2,5 \pm 1,44b	0,00 \pm 0,00a	6,25 \pm 2,39a	6,25 \pm 3,75b	7,50 \pm 2,5a	77,5 \pm 2,50a	0,00 \pm 0,00a
Koncentracija 600 μl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
1,8-cineol	27,50 \pm 5,20a	0,00 \pm 0,00a	37,50 \pm 7,21a	6,25 \pm 1,25a	8,75 \pm 2,39a	18,75 \pm 5,90b	1,25 \pm 1,25a
Eugenol	1,25 \pm 1,25b	0,00 \pm 0,00a	2,50 \pm 2,50b	3,75 \pm 2,39a	12,50 \pm 4,78a	80,00 \pm 7,07a	0,00 \pm 0,00a
Kamfor	7,50 \pm 2,50b	0,00 \pm 0,00a	2,50 \pm 2,50b	1,25 \pm 1,25a	11,25 \pm 4,73a	77,50 \pm 4,33a	0,00 \pm 0,00a
Prosjek po svim koncentracijama							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
1,8-cineol	27,08 \pm 0,69	0,00 \pm 0,00	18,75 \pm 1,79	10,83 \pm 0,69	6,25 \pm 0,85	35,41 \pm 1,39	1,66 \pm 0,80
Eugenol	2,50 \pm 0,53	0,00 \pm 0,00	10,00 \pm 1,06	2,08 \pm 0,85	5,83 \pm 1,01	79,58 \pm 1,85	0,00 \pm 0,00
Kamfor	5,83 \pm 0,63	0,41 \pm 0,55	4,58 \pm 0,18	2,50 \pm 1,38	6,25 \pm 1,60	80,41 \pm 0,68	0,41 \pm 0,55

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Tukey's testom ($\alpha=0,05$), utvrđena je opravdano veća učinkovitost 1,8-cineola u odnosu na kontrolne uzorke bez aplikacije ulja (Tablica 39.). Povećanjem koncentracije (sa 120 na 300 i 600 μ l 350 ml⁻¹vol.), značajno je opadao postotak normalno razvijenog imaga koji se razvio iz preživjelih tretiranih kukuljica (56,25%; 31,25% i 18,75%; (F=25,0; df=3; $p<0,0001$). Stoga je za što uspješnije suzbijanje kukuljica *T. castaneum* muškog spola, u ispunjenom prostoru, potrebno upotrijebiti 1,8-cineol koncentracije od 600 μ l 350 ml⁻¹vol. Kod eugenola je pak, značajno veća učinkovitost u odnosu na kontrolu bez aplikacije ulja zabilježena tek pri najvišoj koncentraciji i to u većem postotku uginulih jedinki u stadiju 2. Obzirom da je taj broj relativno mali (12,50%), a nije bilo opravdanih razlika u uginulim kukuljicama, kao niti u broju živih imaga razvijenih iz preživjelih kukuljica, komponenta eugenol nema opravdanje za suzbijanje kukuljica muškog spola u metodi fumigacije u ispunjenom prostoru.

Tablica 39. Fumigantna učinkovitost 1,8-cineola i eugenola s kontrolom u tretmanu sa zrnom na kukuljice *T. castaneum* muškog spola (skala po Mandavi, 1985)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*								
Koncentracija $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$	Razvojni stadij							
	Stadij 0		Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	
1,8-cineol								
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	
120	30,00±3,53a	0,00±0,00a	6,25±3,14b	3,75±2,39b	3,75±3,75a	56,25±5,15b	0,00±0,00a	
300	23,75±3,75a	0,00±0,00a	12,50±3,22b	22,50±3,22a	6,25±1,25a	31,25±2,39c	3,75±2,39a	
600	27,50±5,20a	0,00±0,00a	37,50±7,21a	6,25±1,25b	8,75±2,39a	18,75±5,90c	1,25±1,25a	
0	3,75±2,39b	3,75±2,39a	3,75±2,39b	7,50±3,22b	0,00±0,00a	81,25±7,46a	0,00±0,00a	
Eugenol								
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	
120	2,50±2,50a	0,00±0,00a	16,25±1,25a	0,00±0,00a	2,50±2,50ba	78,75±3,75a	0,00±0,00a	
300	3,75±2,39a	0,00±0,00a	11,25±4,26ba	2,50±1,44a	2,50±2,50ba	80,00±2,04a	0,00±0,00a	
600	1,25±1,25a	0,00±0,00a	2,50±2,50b	3,75±2,39a	12,50±4,78a	80,00±7,07a	0,00±0,00a	
0	3,75±2,39a	3,75±2,39a	3,75±2,39b	7,50±3,22a	0,00±0,00b	81,25±7,46a	0,00±0,00a	

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je za svaku komponentu po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Usporedbom učinkovitosti kamfora u odnosu na kontrolu s etanolom, opravdana razlika se uočava pri najnižoj koncentraciji (120 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$) i to u većem prosječnom broju uginulih jedinki u stadiju 1 (5,00% $F=6,0$; $df=1$; $p=0,049$) (Tablica 40.). Također je pri ovoj koncentraciji uočen i značajan utjecaj etanola na pojavu deformiranih jedinki u stadiju 2. Stoga kako bi se otklonio utjecaj etanola, za tretiranje kukuljica muškog spola fumigacijom u ispunjenom prostoru, trebalo bi aplicirati više koncentracije kamfora. Obzirom da Tukey's testom ($\alpha=0,05$) nije utvrđena značajna razlika u učinkovitosti između koncentracija 300 i 600 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$ (Tablica 41.), za ekonomično tretiranje, potrebno je aplicirati kamfor u koncentraciji od 300 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$, s kojom je postignuto smanjenje normalno razvijenih živih jedinki u stadiju 3 za 13,75%.

Tablica 40. Fumigantna učinkovitost kamfora s kontrolom u tretmanu sa zrnom na kukuljice *T. castaneum* muškog spola (skala po Mandavi, 1985)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*							
Komponenta	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1	Stadij 2		Stadij 3		
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
Koncentracija 120 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
Kamfor	7,50±3,22a	1,25±1,25a	5,00±2,04a	0,00±0,00b	0,00±0,00a	86,25±3,75a	1,25±1,25a
Kontrola ¹	2,50±2,50a	0,00±0,00a	0,00±0,00b	3,75±1,25a	0,00±0,00a	93,75±1,25a	0,00±0,00a
Koncentracija 300 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
Kamfor	2,05±1,44a	0,00±0,00a	6,25±2,39a	6,25±3,75a	7,50±2,50a	77,50±2,50b	0,00±0,00a
Kontrola ²	1,25±1,25a	0,00±0,00a	5,00±3,53a	0,00±0,00a	2,50±1,44a	91,25±2,39a	0,00±0,00a
Koncentracija 600 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
Kamfor	7,50±2,50a	0,00±0,00a	2,50±2,50a	1,25±1,25a	11,25±4,73a	77,50±4,33a	0,00±0,00a
Kontrola ³	3,75±1,25a	0,00±0,00a	3,75±2,39a	1,25±1,25a	1,25±1,25a	90,00±2,88a	0,00±0,00a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

¹Kontrola s etanolom koncentracije 60 µl 350 ml⁻¹vol.

²Kontrola s etanolom koncentracije 150 µl 350 ml⁻¹vol.

³Kontrola s etanolom koncentracije 300 µl 350 ml⁻¹vol.

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Tablica 41. Fumigantna učinkovitost kamfora po koncentracijama u tretmanu sa zrnom na kukuljice *T. castaneum* muškog spola (skala po Mandavi, 1985)

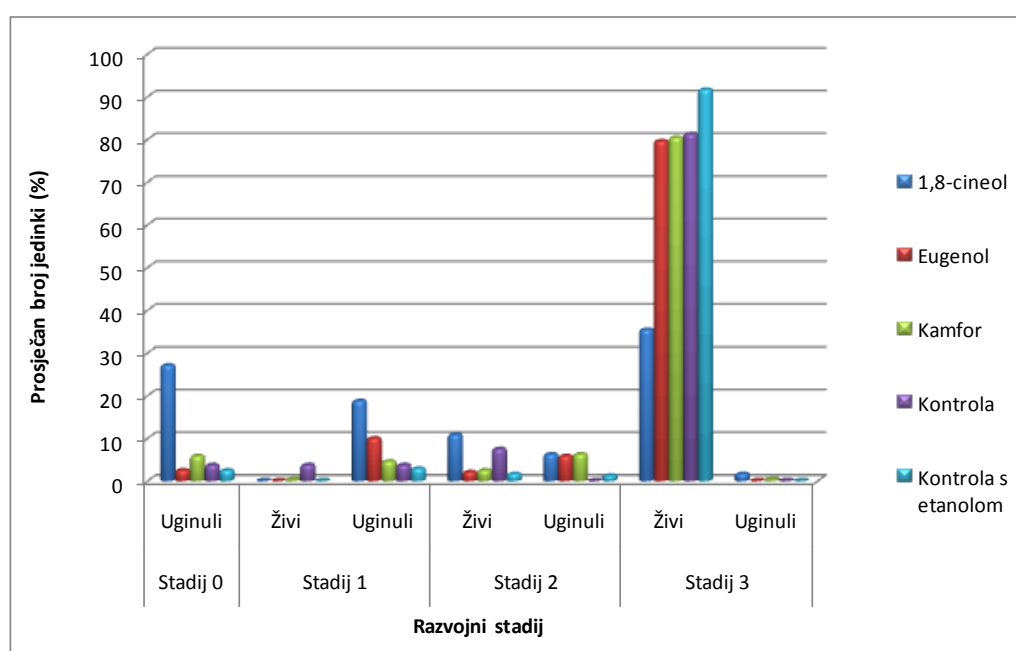
Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*							
Koncentracija µl 350 ml ⁻¹	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1	Stadij 2		Stadij 3		
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
120	7,50±3,22a	1,25±1,25a	5,00±2,04a	0,00±0,00a	0,00±0,00a	86,25±3,75a	1,25±1,25a
300	2,50±1,44a	0,00±0,00a	6,25±2,39a	6,25±3,75a	7,50±2,50a	77,50±2,50a	0,00±0,00a
600	7,50±2,50a	0,00±0,00a	2,50±2,50a	1,25±1,25a	11,25±4,73a	77,50±4,33a	0,00±0,00a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Toksičnost komponenata na kukuljice muškog spola, u metodi fumigacije bez zrna pšenice, izražena je na dva načina. Kao prvo letalno, na jedinke u stadiju kukuljice, te je tako onemogućen njihov daljnji razvoj. Postotak uginulih kukuljica u stadiju 0 kretao se u rasponu od 2,50 do 27,08%, ovisno o komponenti. Kao drugi način djelovanja komponenata, zabilježen je utjecaj na ometanje normalnog razvoja kukuljica u imago,

stvarajući „adultoid“ jedinke, te deformirane jedinke koje su se iz tretiranih preživjelih kukuljica razvile u imago. Postotak „adultoid“ jedinke u stadiju 1 kretao se u rasponu od 0,00% do 0,41%, (živih), te od 4,58% do 18,75% (uginulih), dok se postotak deformiranih jedinke u stadiju 3 kretao u rasponu od od 2,50% do 10,83% (živih), odnosno 5,83% do 6,25% (uginulih) ovisno o komponenti. Ove deformacije su bile slabije ili jače izražene na pokrildu razvijenog imaga. Sve ukupno, najbolje djelovanje je ostvareno 1,8-cineolom, zatim kamforom, dok s eugenolom nije postignut zadovoljavajući učinak na testirane kukuljice (Grafikon 11.).



Grafikon 11. Fumigantna učinkovitost komponenata na stadij kukuljice muškog spola prosječno za sve koncentracije u tretmanu fumigacije sa zrnom

3.2.3.3. Usporedba tretmana fumigacije

Usporedbom rezultata fumigacije između tretmana bez zrna i tretmana sa zrnom pšenice, vidljivo je da učinkovitost testiranih komponenata značajno ovisi o tretmanu (Tablica 42.). Sve tri testirane komponente su, u tretmanu fumigacije sa zrnom pšenice, imale značajno manju učinkovitost, koja je, ovisno o komponenti, bila izražena u manjem postotku uginulih kukuljica, „adultoid“ jedinki, te manjem postotku deformiranih jedinke (Grafikon 12.).

Komponenta 1,8-cineol je u tretmanu sa zrnom pšenice utjecala na značajno manji postotak uginulih kukuljica u stadiju 0, u odnosu na tretman bez zrna (30,00%, odnosno

48,75% $F=7,42$; $df=1$; $p=0,0345$), te je sveukupno zabilježeno značajno više normalno razvijenih živih jedinki u stadiju 3 (56,25%, odnosno 2,50% $F=100,85$; $df=1$; $p<0,0001$).

Kod eugenola je u tretmanu sa zrnom zabilježen značajno manji postotak uginulih jedinki u stadiju 1 u odnosu na tretman bez zrna (1,25%, odnosno 16,25% $F=72,0$; $df=1$; $p=0,0001$). Međutim, obzirom da nije bilo značajnih razlika u postotku uginulih jedinki u stadiju 0, kao niti živih jedinki u stadiju 3, može se zaključiti da između tretmana nije bilo značajnog utjecaja na učinkovitost eugenola. Kod kamfora je značajno manja učinkovitost u tretmanu sa zrnom bila izražena u postotku živih jedinki (0,00% - u tretmanu sa zrnom; 3,75% - u tretmanu bez zrna; $F=9,0$; $df=1$; $p=0,0240$), te uginulih jedinki u stadiju 2 (0,00% - u tretmanu sa zrnom; 25,00% - u tretmanu bez zrna; $F=7,14$; $df=1$; $p=0,0369$). Također, u tretmanu sa zrnom, je zamijećen značajno veći postotak živih jedinki u stadiju 3 (86,25%) u odnosu na tretman u praznom prostoru (27,50%); $F=59,70$; $df=1$; $p=0,0002$).

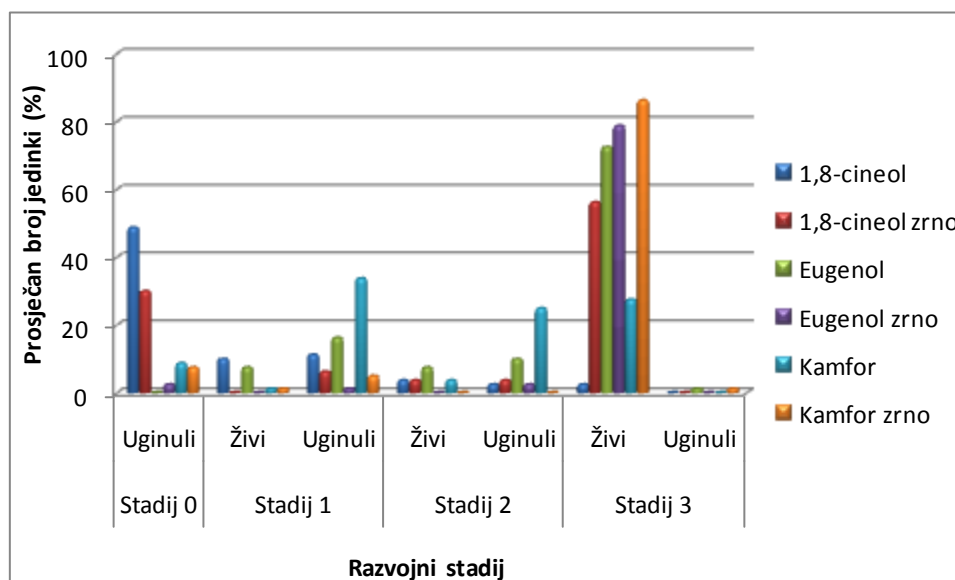
Iz ovih rezultata se može zaključiti da, uslijed značajno slabijeg djelovanja u tretmanu sa zrnom pšenice, testirane komponente se ne preporučuju za suzbijanje kukuljica muškog spola u ispunjenom prostoru zrnatom robom.

Tablica 42. Fumigantna učinkovitost komponenata na kukuljice *T. castaneum* muškog spola pri koncentraciji od 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ ovisno o tretmanu fumigacije (skala po Mandavi, 1985)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*								
Tretman	Razvojni stadij							
	Stadij 0		Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	
1,8-cineol								
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	
bez zrna	48,75 \pm 5,90a	10,00 \pm 4,56a	11,25 \pm 3,75a	3,75 \pm 1,25a	2,50 \pm 2,50a	2,50 \pm 1,44b	0,00 \pm 0,00a	
sa zrnom	30,00 \pm 3,53b	0,00 \pm 0,00a	6,25 \pm 3,14a	3,75 \pm 2,39a	3,75 \pm 3,75a	56,25 \pm 5,15a	0,00 \pm 0,00a	
Eugenol								
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	
bez zrna	0,00 \pm 0,00a	7,50 \pm 4,33a	16,25 \pm 1,25a	7,50 \pm 3,22a	10,00 \pm 6,77a	72,50 \pm 8,53a	1,25 \pm 1,25a	
sa zrnom	2,50 \pm 2,50a	0,00 \pm 0,00a	1,25 \pm 1,25b	0,00 \pm 0,00a	2,50 \pm 2,50a	78,75 \pm 3,75a	0,00 \pm 0,00a	
Kamfor								
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	
bez zrna	8,75 \pm 2,39a	1,25 \pm 1,25a	33,75 \pm 12,8a	3,75 \pm 1,25a	25,00 \pm 9,35a	27,50 \pm 6,61b	0,00 \pm 0,00a	
sa zrnom	7,50 \pm 3,22a	1,25 \pm 1,25a	5,00 \pm 2,04a	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00b	86,25 \pm 3,75a	1,25 \pm 1,25a	

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za svaku komponentu po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice



Grafikon 12. Utjecaj tretmana fumigacije na učinkovitost komponenata pri koncentraciji od $120 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1} \text{ vol.}$ na stadij kukuljice muškog spola

3.2.4. Stadij kukuljice kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst) ženskog spola

3.2.4.1. Tretman fumigacije u praznom prostoru

Nakon testiranja fumigantne učinkovitosti 1,8-cineola, kamfora i eugenola u tretmanu bez zrna, testirane kukuljice *T. castaneum* ženskog spola pokazale su različitu osjetljivost ovisno o apliciranoj komponenti i koncentraciji. Pri najnižoj koncentraciji ($30 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1} \text{ vol.}$) nije bilo značajnih razlika između komponenata (Tukey's test, $\alpha=0,05$) (Tablica 43.). Povišenjem koncentracije sa 30 na $60 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1} \text{ vol.}$ učinkovitost 1,8-cineola je značajno veća u odnosu na eugenol i kamfor. Njegovo bolje djelovanje na tretirane kukuljice ogleda se u značajno većem postotku uginulih jedinki u stadiju 0 (33,75% - uginulih kukuljica) ($F=15,74$; $df=2$; $p=0,0012$), zatim u značajno većem postotku uginulih jedinki u stadiju 1 (26,27% - uginulih „adultoid“ jedinki) ($F=14,03$; $df=2$; $p=0,0017$), te značajno manjem postotku živih jedinki u stadiju 3 (16,25% - $F=23,97$; $df=2$; $p=0,0002$), u odnosu na eugenol. Pri najvišoj koncentraciji ($120 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1} \text{ vol.}$) 1,8-cineol je djelovao na značajno veći postotak deformiranih jedinki u odnosu na eugenol i kamfor (25% - živih jedinki u stadiju 2) ($F=6,17$; $df=2$; $p=0,0026$), te je također rezultirao značajno manjim postotkom normalno razvijenih živih jedinki u stadiju 3 u odnosu na eugenol - 27,5% ($F=18,59$; $df=2$; $p=0,0006$).

Tablica 43. Fumigantna učinkovitost komponenata u tretmanu bez zrna na kukuljice *T. castaneum* ženskog spola (Tukey's test, $\alpha=0,05$) (skala po Mandavi, 1985)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*								
Komponenta	Razvojni stadij							
	Stadij 0		Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	
Koncentracija 30 μl 350 ml⁻¹								
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	
1,8-cineol	13,75 \pm 1,25a	2,50 \pm 1,44a	17,50 \pm 5,95a	3,75 \pm 1,25a	5,00 \pm 2,04a	55,00 \pm 6,77a	2,50 \pm 1,44a	
Eugenol	3,75 \pm 3,75a	5,00 \pm 0,00a	3,75 \pm 2,39a	8,75 \pm 3,75a	3,75 \pm 2,39a	73,75 \pm 6,57a	1,25 \pm 1,25a	
Kamfor	10,00 \pm 2,04a	10,00 \pm 7,07a	10,00 \pm 5,40a	7,50 \pm 3,22a	1,25 \pm 1,25a	61,25 \pm 3,14a	0,00 \pm 0,00a	
Koncentracija 60 μl 350 ml⁻¹								
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	
1,8-cineol	33,75 \pm 7,46a	1,25 \pm 1,25a	26,27 \pm 4,26a	3,75 \pm 2,39a	17,50 \pm 5,95a	16,25 \pm 7,18b	2,50 \pm 2,50ba	
Eugenol	0,00 \pm 0,00b	1,25 \pm 1,25a	1,25 \pm 1,25b	2,50 \pm 1,44a	7,50 \pm 1,44a	87,5 \pm 3,22a	0,00 \pm 0,00b	
Kamfor	6,25 \pm 2,39b	1,25 \pm 1,25a	11,25 \pm 3,75b	2,50 \pm 1,44a	27,50 \pm 8,77a	41,25 \pm 10,07b	10,00 \pm 3,53a	
Koncentracija 120 μl 350 ml⁻¹								
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	
1,8-cineol	27,50 \pm 10,50a	7,50 \pm 1,44a	7,50 \pm 3,22a	25,00 \pm 5,40a	5,00 \pm 2,88a	27,50 \pm 6,61b	0,00 \pm 0,00a	
Eugenol	2,50 \pm 2,50a	1,25 \pm 1,25a	2,50 \pm 1,44a	3,75 \pm 3,75b	11,25 \pm 7,18a	78,75 \pm 7,73a	0,00 \pm 0,00a	
Kamfor	13,75 \pm 5,15a	12,50 \pm 4,78a	15,00 \pm 8,66a	3,25 \pm 4,73b	13,75 \pm 5,15a	41,25 \pm 3,14b	0,00 \pm 0,00a	
Prosjek po koncentracijama								
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	
1,8-cineol	25,00 \pm 3,43	3,75 \pm 0,08	17,09 \pm 0,98	10,83 \pm 1,59	9,16 \pm 1,55	32,91 \pm 0,21	1,66 \pm 0,87	
Eugenol	2,08 \pm 1,38	2,50 \pm 0,55	2,50 \pm 0,46	5,00 \pm 1,02	7,50 \pm 2,34	80,00 \pm 1,74	0,41 \pm 0,55	
Kamfor	10,00 \pm 1,30	7,91 \pm 2,07	12,08 \pm 1,81	4,41 \pm 1,12	14,16 \pm 2,53	47,91 \pm 3,08	3,33 \pm 1,56	

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Usporedbom rezultata (Tukey's test, $\alpha=0,05$) između komponenata i kontrolnih uzoraka bez aplikacije ulja (Tablica 44.), vidljivo je da je komponenta 1,8-cineol pokazala opravdanu primjenu za suzbijanje kukuljica ženskog spola. Uočeno je značajno više uginulih jedinki u stadiju 0 (33,75% - pri koncentraciji od 60 μl 350 ml⁻¹vol.) (F=4,98; df=3; p= 0,018); značajno veći postotak „adultoid“ jedinki (7,50% - živih jedinki pri koncentraciji od 120 μl 350 ml⁻¹vol., te 26,25% - uginulih pri 60 μl 350 ml⁻¹vol.), značajno veći postotak deformiranih jedinki u stadiju 2 (25,00% - živih jedinki pri 120 μl 350 ml⁻¹vol.i 17,50% - uginulih pri 60 μl 350 ml⁻¹vol.), te značajno manji postotak normalno razvijenih živih jedinki u stadiju 3. Opravdana koncentracija 1,8-cineola za kontrolu ženskih kukuljica *T. castaneum* je 120 μl 350 ml⁻¹vol. kojom je postignuta veća toksičnost u odnosu na dvije niže koncentracije (30 i 60 μl 350 ml⁻¹vol.). Iz iste tablice vidljivo je da

je učinkovitost eugenola tek nešto veća u odnosu na kontrolu bez aplikacije ulja, i to izraženo u značajno većem postotku živih „adultoid“ jedinki. Obzirom da je ta vrijednost relativno mala (5,00%), a niti najvišom koncentracijom nije postignut opravdani porast učinkovitosti, eugenol stoga nema opravdanje za kontrolu kukuljica *T. castaneum* ženskog spola u metodi fumigacije bez zrna.

Tablica 44. Fumigantna učinkovitost 1,8-cineola i eugenola s kontrolom u tretmanu bez zrna na kukuljice *T. castaneum* ženskog spola (skala po Mandavi, 1985)

Koncentracija $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$	Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*						
	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
	1,8-cineol						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
30	13,75±1,25ba	2,50±1,44ba	17,5±5,95ba	3,75±1,25b	5,00±2,04ba	55,00±6,77b	2,50±1,44a
60	33,75±7,46a	1,25±1,25b	26,25±4,26a	3,75±2,39b	17,50±5,95a	16,25±7,18c	2,50±1,44a
120	27,50±10,50ba	7,50±1,44a	7,50±3,22b	25,00±5,40a	5,00±2,88ba	27,50±6,61c	0,00±0,00a
Kontrola 0	1,25±1,25b	0,00±0,00b	2,50±2,50b	2,50±1,44b	0,00±0,00b	93,75±2,39a	0,00±0,00a
	Eugenol						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
30	3,75±3,75a	5,00±2,04a	3,75±2,39a	8,75±3,75a	3,75±2,39a	73,75±6,57a	1,25±1,25a
60	0,00±0,00a	1,25±1,25b	1,25±1,25a	2,50±1,44a	7,50±1,44a	87,50±3,22a	0,00±0,00a
120	2,50±2,50a	1,25±1,25b	2,50±1,44a	3,75±3,75a	11,25±7,18a	78,50±7,73a	0,00±0,00a
Kontrola 0	1,25±1,25a	0,00±0,00b	2,50±2,50a	2,50±1,44a	0,00±0,00a	93,75±2,39a	0,00±0,00a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Usporedbom učinkovitosti kamfora u odnosu na kontrolu s etanolom (Tablica 45.), opravdana razlika se uočava tek pri višim koncentracijama (60 i 120 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$) i to u značajno većem postotku deformiranih uginulih jedinki u stadiju 2, i značajno većem postotku uginulih normalno razvijenih jedinki u stadiju 3. Također, je uočen značajan toksični utjecaj etanola na mortalitet tretiranih kukuljica pri koncentracijama od 60 i 120 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$ (26,25% $F=34,91$; $df=1$; $p=0,001$; odnosno 41,25% $F=14,24$; $df=1$; $p=0,0093$). Usporedbom učinkovitosti kamfora između koncentracija (Tablica 46.), s najvišom koncentracijom (120 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$) postignut je značajno veći toksični učinak na tretirane kukuljice, koji je bio izražen u većem postotku uginulih normalno razvijenih jedinki u stadiju 3 (10,00% $F=8,0$; $df=2$; $p=0,0101$).

Tablica 45. Fumigantna učinkovitost kamfora s kontrolom u tretmanu bez zrna na kukuljice *T. castaneum* ženskog spola (skala po Mandavi, 1985)

Komponenta	Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*						
	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
	Konzentracija 30 µl 350 ml ⁻¹						
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
Kamfor	10,00±2,04a	10,00±7,07a	10,00±5,4a	7,50±3,22a	1,25±1,27a	61,25±3,14a	0,00±0,00a
Kontrola ¹	7,50±3,22a	1,25±1,25a	3,75±1,25a	6,25±3,75a	12,25±9,46a	67,57±10,10a	1,25±1,25a
	Konzentracija 60 µl 350 ml ⁻¹						
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
Kamfor	6,25±2,39b	1,25±1,25b	11,25±3,75a	2,50±1,44a	27,50±8,77a	41,25±10,07a	10,00±3,53a
Kontrola ²	26,25±2,39a	11,25±2,39a	5,00±3,53a	1,25±1,25a	0,00±0,00b	56,25±2,39a	0,00±0,00b
	Konzentracija 120 µl 350 ml ⁻¹						
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
Kamfor	13,75±5,15b	5,00±4,78a	15,00±8,66a	6,25±4,73a	13,75±5,15a	41,25±3,15a	0,00±0,00a
Kontrola ³	41,25±5,15a	12,50±3,53a	8,75±3,75a	2,50±2,50a	0,00±0,00b	46,25±4,26a	0,00±0,00a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo p<0,05; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

¹Kontrola s etanolom koncentracije 15 µl 350 ml⁻¹vol.

²Kontrola s etanolom koncentracije 30 µl 350 ml⁻¹vol.

³Kontrola s etanolom koncentracije 60 µl 350 ml⁻¹vol.

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Tablica 46. Fumigantna učinkovitost kamfora po koncentracijama u tretmanu bez zrna na kukuljice *T. castaneum* ženskog spola (skala po Mandavi, 1985)

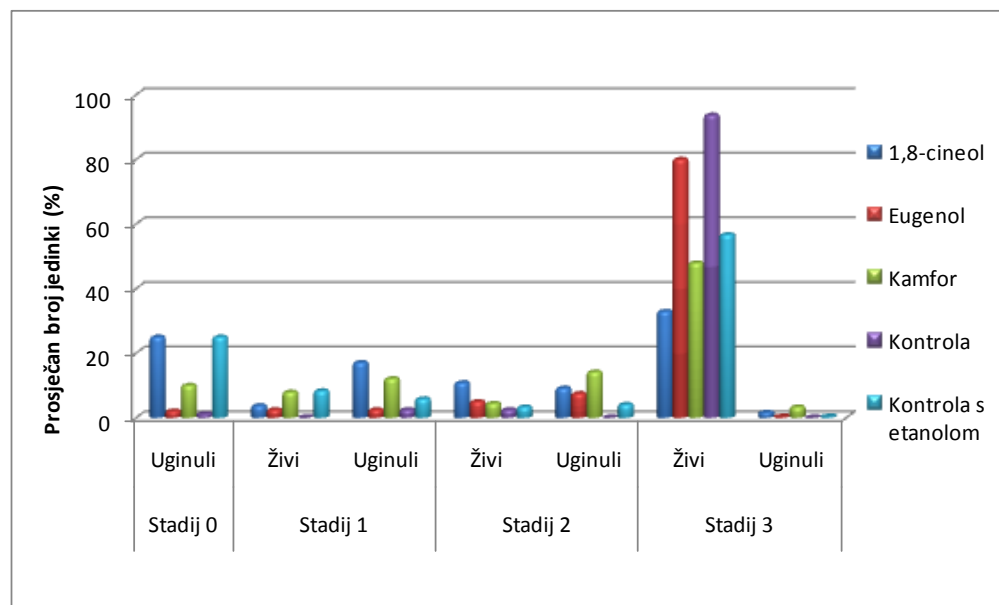
Konzentracija µl 350 ml ⁻¹	Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*						
	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
30	10,00±2,04a	10,00±7,07a	10,00±5,40a	7,70±3,22a	1,25±1,25b	61,25±3,14a	0,00±0,00b
60	6,27±2,39a	1,25±1,25a	11,25±3,75a	2,50±1,44a	27,5±8,77a	41,25±10,07a	10,00±3,53a
120	13,75±5,15a	12,50±4,78a	15,00±8,66a	6,25±4,73a	13,25±5,15ba	41,25±3,14a	0,00±0,00b

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo p<0,05; usporedba je po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Iz svega navedenog, može se zaključiti da je toksičnost komponenata na kukuljice ženskog spola, u metodi fumigacije bez zrna pšenice, izražena na dva načina. Kao prvo letalno, na jedinke u stadiju kukuljice, te je tako onemogućen njihov daljnji razvoj. Postotak uginulih jedinki u stadiju 0 kretao se u rasponu od 2,08% do 25,00%, ovisno o komponenti. Drugi način djelovanja komponenata, je ometanje normalnog razvoja kukuljica u imago, stvarajući „adultoid“ jedinke kao i deformirane jedinke koje su se iz tretiranih preživjelih jedinki razvile u imago. Postotak „adultoid“ jedinki u stadiju 1 kretao se u rasponu od 2,50% do 7,91%, (živih), te 2,50% do 17,09% (uginulih), dok se postotak deformiranih

jedinki u stadiju 3 kretao u rasponu od od 4,41% do 10,83% (živih), odnosno 7,50% do 14,16% (uginulih) ovisno o komponenti. Ove deformacije su bile slabije ili jače izražene na pokriliju razvijenog imaga. Sve ukupno, najbolje djelovanje je ostvareno 1,8-cineolom, zatim kamforom, te na kraju s eugenolom (Grafikon 13.).



Grafikon 13. Učinkovitost komponenata na stadij kukuljice ženskog spola prosječno za sve koncentracije u tretmanu fumigacije bez zrna

3.2.4.2. Tretman fumigacije u prostoru ispunjenom zrnom pšenice

Nakon testiranja fumigantne učinkovitosti 1,8-cineola, kamfora i eugenola u tretmanu sa zrnom pšenice, testirane kukuljice *T. castaneum* ženskog spola pokazale su različitu osjetljivost ovisno o apliciranoj komponenti i koncentraciji (Tablica 47.). Pri najnižoj koncentraciji ($120 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$) komponenta 1,8-cineol imala je bolju učinkovitost u odnosu na kamfor, izraženu u mortalitetu tretiranih kukuljica (18,75% - uginulih jedinki u stadiju 0; $F=6,05$; $df=2$; $p=0,0216$). Učinkovitost eugenola nije se značajno razlikovala od učinkovitosti 1,8-cineola pri najnižoj koncentraciji. Pri višim koncentracijama (300 i $600 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$), djelotvornost 1,8-cineola je značajno (Tukey's test, $\alpha=0,05$), viša u odnosu na kamfor i eugenol; izraženo u većem postotku uginulih jedinki u stadiju 0 (pri $600 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$), manjem postotku živih jedinki u stadiju 3 (pri 300 i $600 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$), te većem postotku uginulih deformiranih jedinki u stadiju 2 (pri $600 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}\text{vol.}$ samo u odnosu na kamfor). Učinkovitost eugenola i kamfora se nije značajno razlikovala niti u jednoj od apliciranih koncentracija.

Tablica 47. Fumigantna učinkovitost komponenata u tretmanu sa zrnom na kukuljice *T. castaneum* ženskog spola (Tukey's test, $\alpha=0,05$) (skala po Mandavi, 1985)

Komponenta	Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*						
	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
Koncentracija 120 μl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
1,8-cineol	18,75 \pm 5,15a	1,25 \pm 1,25a	7,50 \pm 2,50a	3,75 \pm 1,25a	3,75 \pm 3,75a	63,75 \pm 7,46a	1,25 \pm 1,25a
Eugenol	10,00 \pm 2,04ba	0,00 \pm 0,00a	7,50 \pm 1,44a	1,25 \pm 1,25a	1,25 \pm 1,25a	81,25 \pm 3,14a	0,00 \pm 0,00a
Kamfor	2,50 \pm 1,44b	0,00 \pm 0,00a	6,25 \pm 4,73a	5,00 \pm 2,88a	2,50 \pm 1,44a	83,75 \pm 8,98a	0,00 \pm 0,00a
Koncentracija 300 μl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
1,8-cineol	18,75 \pm 5,90a	0,00 \pm 0,00a	8,75 \pm 2,39a	10,00 \pm 3,53a	6,25 \pm 3,75a	55,00 \pm 7,35b	1,25 \pm 1,25a
Eugenol	8,75 \pm 4,26a	0,00 \pm 0,00a	5,00 \pm 2,04a	3,75 \pm 1,25a	0,00 \pm 0,00a	83,75 \pm 1,25a	0,00 \pm 0,00a
Kamfor	2,50 \pm 1,44a	1,25 \pm 1,25a	1,25 \pm 1,25a	2,50 \pm 1,44a	0,00 \pm 0,00a	92,50 \pm 3,22a	0,00 \pm 0,00a
Koncentracija 600 μl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
1,8-cineol	31,25 \pm 7,18a	0,00 \pm 0,00a	11,25 \pm 3,75a	8,75 \pm 3,75a	17,50 \pm 3,22a	28,75 \pm 6,25b	0,00 \pm 0,00a
Eugenol	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00a	3,75 \pm 3,75a	3,75 \pm 2,39a	8,75 \pm 3,14ba	83,75 \pm 4,26a	0,00 \pm 0,00a
Kamfor	2,50 \pm 1,44b	0,00 \pm 0,00a	5,00 \pm 2,88a	8,75 \pm 2,39a	5,00 \pm 2,88b	80,00 \pm 4,56a	0,00 \pm 0,00a
Prosjeck po koncentracijama							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
1,8-cineol	22,91 \pm 0,73	0,41 \pm 0,55	9,16 \pm 0,58	7,50 \pm 1,06	9,16 \pm 0,23	49,16 \pm 0,51	0,83 \pm 0,55
Eugenol	6,25 \pm 1,44	0,00 \pm 0,00	5,41 \pm 0,89	2,91 \pm 0,50	3,33 \pm 1,17	82,91 \pm 1,08	0,00 \pm 0,00
Kamfor	2,50 \pm 2,22	0,41 \pm 0,55	4,16 \pm 1,18	5,41 \pm 0,53	2,50 \pm 0,96	85,41 \pm 2,62	0,00 \pm 0,00

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Usporedbom rezultata (Tukey's test, $\alpha=0,05$) između komponenata i kontrolnih uzoraka bez aplikacije ulja u ispunjenom prostoru sa zrnom (Tablica 48.), vidljivo je da je komponenta 1,8-cineol pokazala opravdanu primjenu za suzbijanje kukuljica ženskog spola, sa značajno više uginulih jedinki u stadiju 0 (31,25% - pri koncentraciji od 600 μ l 350 ml⁻¹vol.), u značajno većem postotku deformiranih uginulih jedinki u stadiju 2 (17,5% pri 600 μ l 350 ml⁻¹vol.), te značajno manjem postotku normalno razvijenih živih jedinki u stadiju 3. Opravdana koncentracija za kontrolu ženskih kukuljica *T. castaneum* u ispunjenom prostoru zrnom je 600 μ l 350 ml⁻¹vol. kojom je postignuta veća toskičnost u odnosu na dvije niže koncentracije (120 i 300 μ l 350 ml⁻¹vol.). Iz iste tablice vidljivo je da je učinkovitost eugenola značajno veća u odnosu na kontrolu bez aplikacije ulja, izraženo u većem postotku uginulih jedinki u stadiju 0 (pri 120 μ l 350 ml⁻¹vol.), većem postotku

uginulih jedinki u stadiju 2 (pri 120 i 600 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$), te manjem postotku normalno razvijenih živih jedinki u stadiju 3 (pri 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$). Obzirom da povećanjem koncentracije 120 na 600 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ nije postignuto i povećanje učinkovitosti eugenola, stoga upravo niža koncentracija ima opravdanje za kontrolu kukuljica *T. castaneum* ženskog spola u tretmanu fumigacije sa zrnom pšenice.

Tablica 48. Fumigantna učinkovitost 1,8-cineola i eugenola s kontrolom u tretmanu sa zrnom na kukuljice *T. castaneum* ženskog spola (skala po Mandavi, 1985)

Koncentracija μl 350 ml^{-1}	Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*						
	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
	1,8-cineol						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
120	18,75 \pm 5,15ba	1,25 \pm 1,25a	7,50 \pm 2,50a	3,75 \pm 1,25a	3,75 \pm 3,75b	63,75 \pm 7,46b	1,25 \pm 1,25a
300	18,75 \pm 5,90ba	0,00 \pm 0,00a	8,75 \pm 2,39a	10,00 \pm 3,53a	6,25 \pm 3,75ba	55,0 \pm 7,35b	1,25 \pm 1,25a
600	31,25 \pm 7,18a	0,00 \pm 0,00a	11,25 \pm 3,75a	8,75 \pm 3,75a	17,50 \pm 3,22a	28,75 \pm 6,25c	0,00 \pm 0,00a
Kontrola 0	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00a	2,50 \pm 2,50a	3,75 \pm 2,39a	0,00 \pm 0,00b	93,75 \pm 9,39a	0,00 \pm 0,00a
	Eugenol						
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
120	10,00 \pm 2,04a	0,00 \pm 0,00a	7,50 \pm 1,44a	1,25 \pm 1,25a	1,25 \pm 1,25a	81,25 \pm 3,14b	0,00 \pm 0,00a
300	8,75 \pm 4,26ba	0,00 \pm 0,00a	5,00 \pm 2,04a	3,75 \pm 1,25a	0,00 \pm 0,00b	83,75 \pm 1,25ba	0,00 \pm 0,00a
600	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00a	3,75 \pm 3,75a	3,75 \pm 2,39a	8,75 \pm 3,14a	83,75 \pm 4,26ba	0,00 \pm 0,00a
Kontrola 0	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 0,00a	2,50 \pm 2,50a	3,75 \pm 2,39a	0,00 \pm 0,00b	93,75 \pm 2,39a	0,00 \pm 0,00a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je za svaku komponentu po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Usporedbom učinkovitosti kamfora u odnosu na kontrolu s etanolom (Tablica 49.), nije zabilježena opravdana razlika (Tukey's test, $\alpha = 0,05$) u učinkovitosti niti pri najvišoj koncentraciji (600 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$). Stoga kamfor nema opravdanu primijenu u kontroli kukuljica *T. castaneum* ženskog spola fumigacijom u prostoru ispunjenom zrnim pšenice.

Tablica 49. Fumigantna učinkovitost kamfora s kontrolom u tretmanu sa zrnom na kukuljice *T. castaneum* ženskog spola (skala po Mandavi, 1985)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*								
Komponenta	Razvojni stadij							
	Stadij 0		Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	
Koncentracija 120 µl 350 ml⁻¹								
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	
Kamfor	2,50±1,44a	0,00±0,00a	6,25±4,73a	5,00±2,88a	2,50±1,44a	83,75±8,98a	2,50±1,44a	
Kontrola ¹	2,50±2,50a	0,00±0,00a	2,50±1,44a	0,00±0,00a	0,00±0,00a	92,50±2,50a	0,00±0,00a	
Koncentracija 300 µl 350 ml⁻¹								
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	
Kamfor	2,50±2,39a	1,25±1,25a	1,25±1,25a	2,50±1,44a	0,00±0,00a	92,50±3,22a	0,00±0,00a	
Kontrola ²	3,75±1,44a	1,25±1,25a	0,00±0,00a	2,50±2,50a	1,25±1,25a	91,25±7,18a	0,00±0,00a	
Koncentracija 600 µl 350 ml⁻¹								
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	
Kamfor	2,50±1,44a	0,00±0,00a	5,00±2,88a	8,75±2,39a	5,00±2,88a	80,00±4,56a	0,00±0,00a	
Kontrola ³	2,50±1,44a	1,25±1,25a	1,25±1,25a	2,50±1,44a	0,00±0,00a	92,50±3,22a	0,00±0,00a	

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

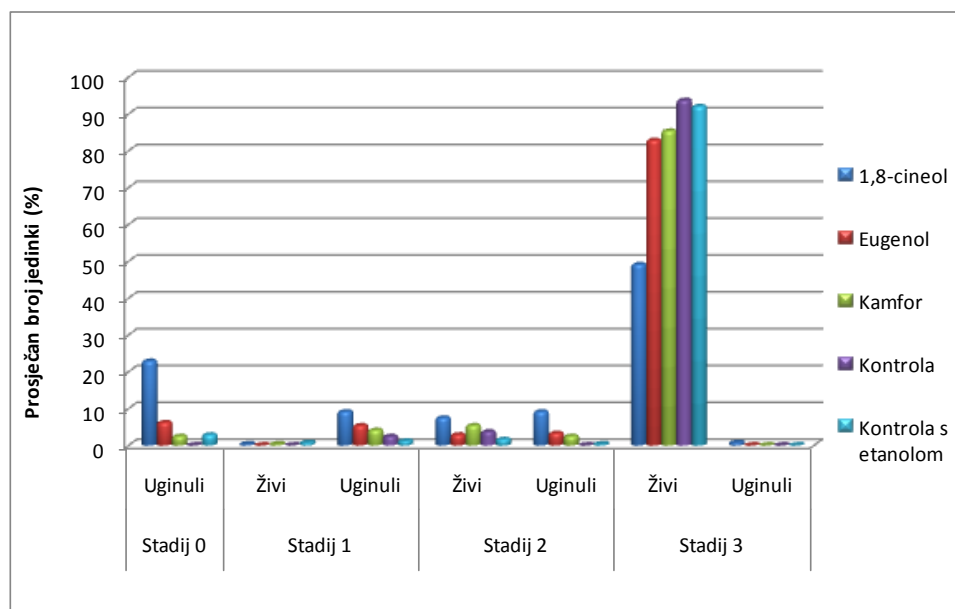
¹Kontrola s etanolom koncentracije 60 µl 350 ml⁻¹vol.

²Kontrola s etanolom koncentracije 150 µl 350 ml⁻¹vol.

³Kontrola s etanolom koncentracije 300 µl 350 ml⁻¹vol.

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Iz svega navedenog, može se zaključiti da je toksičnost komponenata na kukuljice ženskog spola, u metodi fumigacije sa zrnom pšenice, bila izražena na dva načina. Kao prvo letalno, na jedinke u stadiju kukuljice, te je tako onemogućen njihov daljnji razvoj. Postotak uginulih u stadiju 0 kretao se od 2,5% kod kamfora, 6,25% kod eugenola te 22,91% kod 1,8-cineola. Drugi način djelovanja komponenata, je ometanje normalnog razvoja kukuljica u imago, rezultirajući razvojem „adultoid“ jedinki (uginulih), i to najviše kod 1,8-cineola, te deformiranih jedinki koje su se iz tretiranih preživjelih jedinki razvile u imago, također najviše kod 1,8-cineola. Ove deformacije su bile slabije ili jače izražene na pokrillju razvijenog imaga. Vidljivo je da komponenta 1,8-cineol ima općenito najbolje djelovanje na tretirane ženske kukuljice, potom slijedi eugenol te kamfor s najslabijim djelovanjem (Grafikon 14.)



Grafikon 14. Učinkovitost komponenata na stadij kukuljice ženskog spola prosječno za sve koncentracije u tretmanu fumigacije sa zrnom

3.2.4.3. Usporedba tretmana fumigacije

Usporedbom rezultata fumigacije između tretmana bez zrna i tretmana sa zrnom pšenice, vidljivo je da učinkovitost testiranih komponenata značajno ovisi o tretmanu (Tablica 50.). Sve tri testirane komponente su, u tretmanu fumigacije sa zrnom pšenice, imale slabiju učinkovitost, koja je uglavnom izražena u manjem postotku „adultoid“ jedinki i manjem postotku deformiranih jedinki. Između tretmana, niti s jednom od komponenti nisu zabilježene značajne razlike u letalnom djelovanju na tretirane kukuljice u stadiju 0. Općenito slabije djelovanje komponenata u tretmanu sa zrnom pšenice, rezultiralo je većim postotkom živih imaga koji su se razvili iz tretiranih preživjelih kukuljica (Grafikon 15.). Komponenta 1,8-cineol je u tretmanu sa zrnom pšenice utjecala na značajno manji postotak „adultoid“ živih jedinki u stadiju 1 u odnosu na tretman bez zrna (1,25%, odnosno 27,50% $F=10,7$; $df=1$; $p=0,0170$), zatim manjim postotkom deformiranih živih jedinki u stadiju 2 (3,75%, odnosno 25,00% $F=14,69$; $df=1$; $p=0,0086$), te je sveukupno zabilježeno značajno više normalno razvijenih živih jedinki u stadiju 3 (63,75%, odnosno 27,50% $F=13,21$; $df=1$; $p=0,0109$). Kod eugenola je u tretmanu sa zrnom zabilježen značajno veći postotak jedinki u stadiju 1 u odnosu na tretman bez zrna (7,50%, odnosno 2,50% $F=6,0$; $df=1$; $p=0,0498$). Međutim, obzirom da nije bilo značajnih razlika u postotku uginulih jedinki u stadiju 0, kao niti živih jedinki u stadiju 3, može se zaključiti da između tretmana nije bilo značajnog utjecaja na učinkovitost eugenola.

Kod kamfora je između tretmana zabilježena značajna razlika u postotku živih jedinki u stadiju 1 (0,00% - u tretmanu sa zrnom; 12,50% - u tretmanu bez zrna; $F=6,82$; $df=1$; $p=0,0401$), te u prosječnom broju živih jedinki u stadiju 3 (83,75% - u tretmanu sa zrnom; 41,25% - u tretmanu bez zrna; $F=19,93$; $df=1$; $p=0,0043$).

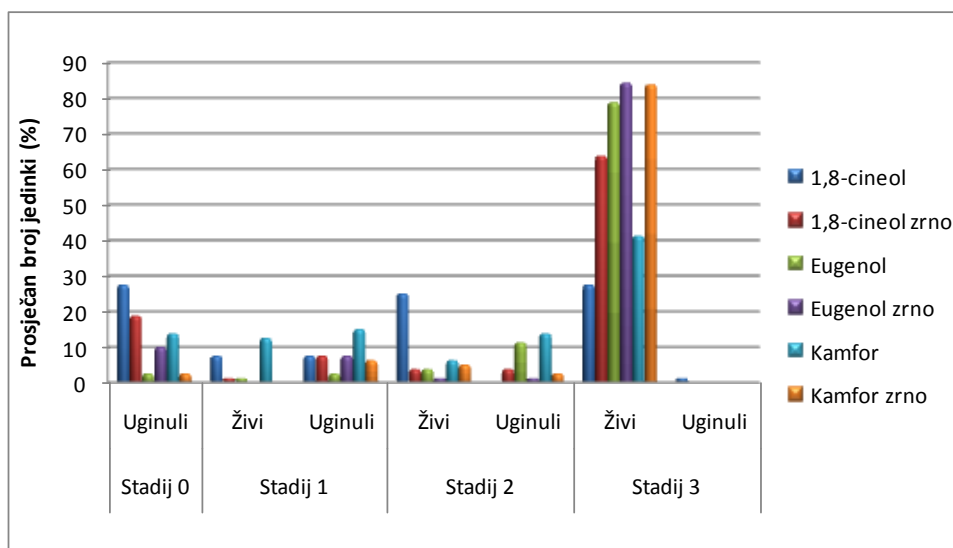
Iz ovih rezultata se može zaključiti da, uslijed značajno slabijeg djelovanja u tretmanu sa zrnom pšenice, testirane komponente se ne preporučuju za suzbijanje kukuljica ženskog spola u ispunjenom prostoru zrnatom robom.

Tablica 50. Fumigantna učinkovitost komponenata na kukuljice *T. castaneum* ženskog spola pri koncentraciji od 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ ovisno o tretmanu fumigacije (skala po Mandavi, 1985)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*								
Tretman	Razvojni stadij							
	Stadij 0		Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	
1,8-cineol								
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	
bez zrna	27,50±10,50a	7,50±1,44a	7,50±3,22a	25,00±5,40a	5,00±2,88a	27,50±6,61b	1,25±1,25a	
sa zrnom	18,75±5,25a	1,25±1,25b	7,50±2,50a	3,75±1,25b	3,75±3,75a	63,75±7,46a	0,00±0,00a	
Eugenol								
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	
bez zrna	2,50±2,50a	1,25±1,25a	2,50±1,44b	3,75±3,75a	11,25±7,18a	78,75±7,73a	0,00±0,00a	
sa zrnom	10,00±2,04a	0,00±0,00a	7,50±1,44a	1,25±1,25a	1,25±1,25a	81,25±3,14a	0,00±0,00a	
Kamfor								
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	
bez zrna	13,75±5,15a	12,50±4,78a	15,00±8,66a	6,25±4,73a	13,75±5,15a	41,25±3,14b	0,00±0,00a	
sa zrnom	2,50±1,44a	0,00±0,00b	6,25±4,73a	5,00±2,88a	2,50±1,44a	83,75±8,98a	0,00±0,00a	

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za svaku komponentu po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice



Grafikon 15. Usporedba utjecaja tretmana na učinkovitost komponenata na kukuljice ženskog spola pri koncentraciji od $120 \mu\text{l}$ $350 \text{ ml}^{-1}\text{vol}$.

3.2.5. Učinkovitost komponenata po spolovima kukuljica kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst)

3.2.5.1. Tretman fumigacije u praznom prostoru

Nakon testiranja fumigantne učinkovitosti 1,8-cineola, kamfora i eugenola u tretmanu bez zrna, vidljivo je da između spolova postoje razlike u osjetljivosti, i to ovisno o komponenti i apliciranoj koncentraciji. Kod 1,8-cineola, značajne razlike u osjetljivosti među spolovima uočljive su pri višim koncentracijama (Tablica 51.). Tako je pri $60 \mu\text{l}$ $350 \text{ ml}^{-1}\text{vol}$., kod ženskog spola bilo značajno više deformiranih uginulih jedinki u stadiju 2 u odnosu na muški spol (17,50%, odnosno 1,25% $F=7,14$; $df=1$; $p=0,0369$). Pri najvišoj koncentraciji ($120 \mu\text{l}$ $350 \text{ ml}^{-1}\text{vol}$.), kod ženskog spola je također bilo značajno više deformiranih živih jedinki u stadiju 2 (25,00%, odnosno 3,75% $F=14,69$; $df=1$; $p=0,0086$). Osim toga, 1,8-cineol je pri ovoj koncentraciji značajno više utjecao na smanjenje živih jedinki imaga, koji su se razvili iz tretiranih preživjelih kukuljica muškog spola (2,50% - muških jedinki u stadiju 3; odnosno 27,50% - ženskih jedinki u stadiju 3; $F=13,64$; $df=1$; $p=0,0102$).

Može se zaključiti da je učinkovitost 1,8-cineola, u ovoj metodi fumigacije, bila izražena po spolu i to jačim utjecajem na razvoj kukuljica u imago (više deformiranih jedinki u stadiju imaga), kod ženskog spola, kao i uspješnijim suzbijanjem muškog spola (manje normalno razvijenih jedinki u stadiju imaga).

Tablica 51. Fumigantna učinkovitost 1,8-cineola po spolovima kukuljica *T. castaneum* u tretmanu bez zrna (skala po Mandavi, 1985)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*							
Spol	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
Koncentracija 30 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	16,25±4,73a	12,50±5,20a	13,75±6,88a	5,00±3,53a	2,50±2,50a	36,25±3,75a	13,75±5,15a
♀	13,75±1,25a	2,50±1,44a	17,50±5,95a	3,75±1,25a	5,00±2,04a	55,00±6,77a	2,50±1,44a
Koncentracija 60 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	48,75±5,90a	17,50±7,50a	10,00±8,41a	5,00±3,53a	1,25±1,25b	16,25±8,00a	1,25±1,25a
♀	33,75±7,46a	1,25±1,25a	26,25±4,26a	3,75±2,39a	17,50±5,95a	16,25±7,18a	2,50±2,50a
Koncentracija 120 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	48,75±5,90a	10,00±4,56a	11,25±3,75a	3,75±1,25b	2,50±2,50a	2,50±1,44b	0,00±0,00a
♀	27,50±10,5a	7,50±1,44a	7,50±3,22a	25,00±5,40a	5,00±2,88a	27,50±6,61a	0,00±0,00a
Prosjeck po svim koncentracijama							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	37,91±0,52	13,33±1,16	11,66±1,73	4,58±1,01	2,08±0,55	18,33±2,40	5,00±2,01
♀	25,00±3,43	3,75±0,08	17,08±0,98	10,83±1,59	9,16±1,55	32,91±0,21	1,66±0,87

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Učinkovitost eugenola s obzirom na spol izražena je samo za značajno veći postotak uginulih jedinki u stadiju 0 pri 60 µl 350 ml⁻¹ vol. (3,75% - muški spol; odnosno 0,00% - ženski spol; $F=9,0$; $df=1$; $p=0,0240$) (Tablica 52.)

Tablica 52. Fumigantna učinkovitost eugenola po spolovima kukuljica *T. castaneum* u tretmanu bez zrna (skala po Mandavi, 1985)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*							
Spol	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
Konzentracija 30 µl 350 ml ⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	0,00±0,00a	6,25±3,75a	1,25±1,25a	6,25±2,39a	7,50±3,22a	80,00±5,40a	1,25±1,25a
♀	3,75±3,75a	5,00±1,24a	3,75±2,39a	8,75±3,75a	3,75±2,39a	73,75±6,57a	0,00±0,00a
Konzentracija 60 µl 350 ml ⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	3,75±1,25a	1,25±1,25a	1,25±1,25a	1,25±1,25a	10,00±3,53a	76,25±3,75a	6,25±3,14a
♀	0,00±0,00b	1,25±1,25a	1,25±1,25a	2,50±1,44a	7,50±1,44a	87,50±3,22a	0,00±0,00a
Konzentracija 120 µl 350 ml ⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	0,00±0,00a	7,50±4,33a	1,25±1,25a	7,50±3,22a	10,00±6,77a	72,00±8,53a	1,25±1,25a
♀	2,50±2,05a	1,25±1,25a	2,50±1,44a	3,75±3,75a	11,25±7,18a	78,75±7,73a	0,00±0,00a
Prosjek po svim koncentracijama							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	1,25±0,55	5,00±1,24	1,25±0,00	5,00±0,69	10,00±1,50	76,08±1,75	2,91±0,84
♀	2,08±1,38	2,50±0,55	2,50±0,46	5,00±1,02	7,50±2,34	80,00±1,74	0,00±0,00

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Što se tiče kamfora, testirane kukuljice pokazale su različitu osjetljivost po spolovima ovisno o apliciranoj koncentraciji (Tablica 53.). Tako je pri 30 µl 350 ml⁻¹ vol. osjetljiviji bio ženski spol; izraženo kao veći postotak uginulih kukuljica (10,00% - ženskih jedinki u stadiju 0; odnosno 0,00% - muških jedinki u stadiju 0; $F=24,0$; $df=1$; $p=0,0027$). Povišenjem koncentracije kamfora sa 60 na 120 µl 350 ml⁻¹ vol. muške kukuljice su značajno osjetljivije (30,00% - muških uginulih jedinki u stadiju 0; odnosno 6,25% - ženskih uginulih jedinki u stadiju 0; $F=8,27$; $df=1$; $p=0,00282$). Osim toga, pri ovoj koncentraciji kamfor je utjecao na veći postotak deformiranih jedinki u stadiju 2, kod ženskog spola (27,50 – uginulih ženskih jedinki u stadiju 2, odnosno 5,00 – uginulih muških jedinki u stadiju 2). Ove razlike nisu statistički opravdane (Tukey's 0,05).

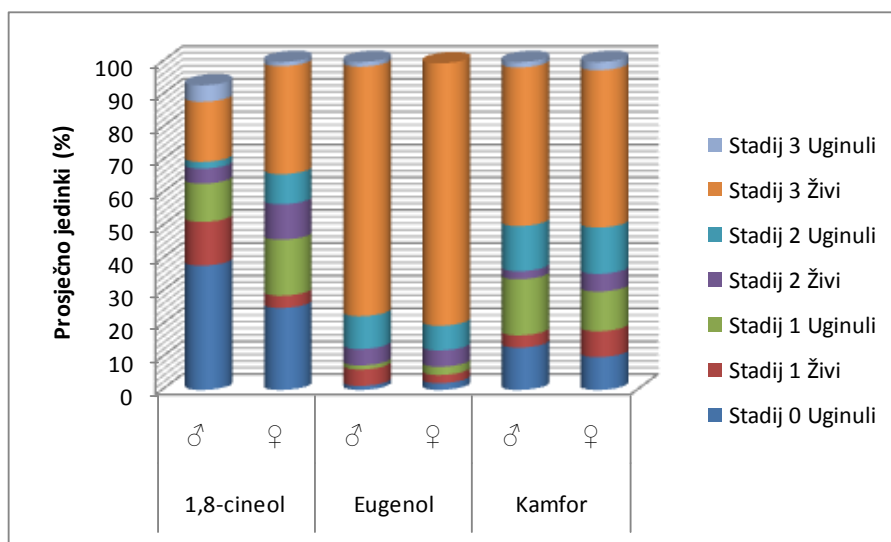
Tablica 53. Fumigantna učinkovitost kamfora po spolovima kukuljica *T. castaneum* u tretmanu bez zrna (skala po Mandavi, 1985)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*							
Spol	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
Koncentracija 30 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	0,00±0,00b	5,00±2,04a	3,75±2,39a	1,25±1,25a	11,25±6,57a	75,00±7,90a	3,75±2,39a
♀	10,00±2,04a	10,00±7,07a	10,00±5,40a	7,50±3,22a	1,25±1,25a	61,25±3,14a	0,00±0,00a
Koncentracija 60 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	30,00±7,90a	5,00±2,04a	13,75±8,98a	2,50±1,44a	5,00±3,53a	42,50±2,50a	1,25±1,25a
♀	6,25±2,39b	1,25±1,25a	11,25±3,75a	2,50±1,44a	27,50±8,77a	41,25±10,07a	10,00±3,53a
Koncentracija 120 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	8,75±2,39a	1,25±1,25a	33,75±12,8a	3,75±1,25a	25,00±9,35a	27,50±6,61a	0,00±0,00a
♀	13,75±5,15a	12,50±4,78a	15,00±8,66a	6,25±4,73a	13,75±5,15a	41,25±3,14a	0,00±0,00a
Prosjeck po svim koncentracijama							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	12,91±2,98	3,75±0,35	17,08±3,77	2,50±0,08	13,75±1,96	48,33±2,11	1,66±0,80
♀	10,00±1,30	7,91±2,07	12,08±1,81	5,41±1,12	14,16±2,53	47,91±3,08	3,33±3,21

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Prosječno, utjecaj spolova na učinkovitost testiranih komponenata, u tretmanu fumigacije bez zrna pšenice, najviše je izražena kod 1,8-cineola (Grafikon 16.). Naime, muški spol kukuljica je općenito senzibilniji na 1,8-cineol što je izraženo u većem postotku uginulih tretiranih kukuljica i „adultoid“ jedinki, te ukupno manjem postotku imaga razvijenih iz tretiranih kukuljica. Osim toga, 1,8-cineol je kod ženskog spola više utjecao na ometanje normalnog razvoja kukuljica u imago (više deformiranih ženskih jedinki). Kamfor je slijedeća komponenta kod koje je izražen utjecaj spola na njegovu učinkovitost, gdje je također muški spol pokazao veću osjetljivost. Utjecaj spolova je bio najmanje izražen na učinkovitost eugenola.



Grafikon 16. Utjecaj spolova kukuljica *T. castaneum* na učinkovitost komponenata u tretmanu bez zrna

3.2.5.2. Tretman fumigacije u prostoru ispunjenom zrnom pšenice

U tretmanu sa zrnom, učinkovitost 1,8-cineola, kamfora i eugenola bila je različita između spolova tretiranih kukuljica *T. castaneum*, i to ovisno o komponenti i apliciranoj koncentraciji. Kod 1,8-cineola, značajne razlike u osjetljivosti među spolovima uočljive su pri višim koncentracijama (Tablica 54.). Tako je pri 300 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$, kod muškog spola bilo značajno više deformiranih živih jedinki u stadiju 2 u odnosu na ženski spol (22,50%, odnosno 10,00% $F=6,82$; $df=1$; $p=0,040$). Također pri istoj koncentraciji 1,8-cineola, kod muškog spola je zabilježen značajno manji postotak živih jedinki imaga koji su se razvili iz tretiranih preživjelih kukuljica (31,25% - živih jedinki muškog spola u stadiju 3; odnosno 55,00% - živih jedinki ženskog spola u stadiju 3 $F=9,42$; $df=1$; $p=0,0220$), što ukazuje na općenito bolje preživljavanje kukuljica ženskog spola. Muški spol je i pri koncentraciji 1,8-cineola od 600 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ bio osjetljiviji, i to izraženo u većem broju uginulih „adultoid“ jedinki (37,50% - uginulih jedinki muškog spola u stadiju 1; odnosno 11,25% - uginulih jedinki ženskog spola u stadiju 1 $F=10,42$; $df=1$; $p=0,0180$).

Tablica 54. Fumigantna učinkovitost 1,8-cineola po spolovima kukuljica *T. castaneum* u tretmanu sa zrnom (skala po Mandavi, 1985)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*							
Spol	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
Koncentracija 120 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	30,00±3,53a	0,00±0,00a	6,25±3,14a	3,75±2,39a	3,75±3,75a	56,25±5,15a	0,00±0,00a
♀	18,75±5,15a	1,25±1,25a	7,50±2,50a	3,75±1,25a	3,75±3,75a	63,75±7,46a	1,25±1,25a
Koncentracija 300 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	23,75±3,75a	0,00±0,00a	12,50±3,22a	22,50±3,22a	6,25±1,25a	31,25±2,39b	3,75±2,39a
♀	18,75±5,90a	0,00±0,00a	8,75±2,39a	10,00±3,53b	6,25±3,75a	55,00±7,35a	1,25±1,25a
Koncentracija 600 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	27,50±5,20a	0,00±0,00a	37,50±7,21a	8,75±3,75a	8,75±2,39a	18,75±5,90a	1,25±1,25a
♀	31,25±7,18a	0,00±0,00a	11,25±3,75b	6,25±1,25a	17,5±3,22a	28,75±6,25a	0,00±0,00a
Prosjeck po svim koncentracijama							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	27,08±0,69	0,00±0,00	18,75±1,79	11,66±0,48	6,25±0,85	35,41±1,39	1,66±0,80
♀	22,91±0,73	0,41±0,55	9,16±0,58	6,66±1,01	9,16±0,23	49,16±0,51	0,83±0,55

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Razlika učinkovitosti po spolu bila je slabije izražena kod tretmana s eugenolom (Tablica 55.). Samo pri najnižoj koncentraciji (120 µl 350 ml⁻¹vol.) muški spol je bio senzibilniji, što je bilo izraženo u značajno većem postotku uginulih „adultoid“ jedinki (16,25% - uginulih muških jedinki u stadiju 1; odnosno 7,50% - uginulih ženskih jedinki u stadiju 1 $F=21,0$; $df=1$; $p=0,0038$). Pri višim koncentracijama eugenola (300 i 600 µl 350 ml⁻¹vol.) kukuljice oba spola su podjednako osjetljive na eugenol te nisu zabilježene statističke razlike u razvojnim stadijima između spolova (Tukey's test, $\alpha=0,05$).

Tablica 55. Fumigantna učinkovitost eugenola po spolovima kukuljica *T. castaneum* u tretmanu sa zrnem (skala po Mandavi, 1985)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)*							
Spol	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
Koncentracija 120 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	2,50±2,50a	0,00±0,00a	16,25±1,25a	0,00±0,00a	2,50±2,50a	78,75±3,75a	0,00±0,00a
♀	10,00±2,04a	0,00±0,00a	7,50±1,44b	1,25±1,25a	1,25±1,25a	81,25±3,14a	0,00±0,00a
Koncentracija 300 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	3,75±3,75a	0,00±0,00a	11,25±4,26a	2,50±1,44a	2,50±2,50a	80,00±2,04a	0,00±0,00a
♀	8,75±4,26a	0,00±0,00a	5,00±2,04a	3,75±1,25a	0,00±0,00a	83,75±1,25a	0,00±0,00a
Koncentracija 600 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	1,25±1,25a	0,00±0,00a	2,50±2,50a	3,75±2,39a	12,50±4,78a	80,00±7,07a	0,00±0,00a
♀	0,00±0,00a	0,00±0,00a	3,75±3,75a	3,75±2,39a	8,75±3,14a	83,75±4,26a	0,00±0,00a
Prosjeck po svim koncentracijama							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	2,50±0,83	0,00±0,00	10,00±1,06	2,08±0,47	5,83±1,01	79,58±1,85	0,00±0,00
♀	6,25±1,44	0,00±0,00	5,41±0,89	2,91±0,50	3,33±1,11	82,91±1,08	0,00±0,00

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Razlike u učinkovitosti kamfora s obzirom na spol kukuljica *T. castaneum* bila je značajno izražena u postotku deformiranih jedinki, kao i normalno razvijenih jedinki u stadiju imaga (Tablica 56.). Pri koncentraciji od 300 µl 350 ml⁻¹vol., zabilježen je značajno veći postotak deformiranih uginulih jedinki u stadiju 2 kod muškog spola (7,50% - uginulih jedinki muškog spola u stadiju 2; odnosno 0,00% – uginulih jedinki ženskog spola u stadiju 2 $F=9,0$; $df=1$; $p=0,0240$). Porastom koncentracije sa 300 na 600 µl 350 ml⁻¹vol., kamfor je utjecao na povećanje postotka deformiranih jedinki u stadiju imaga i to kod ženskog spola (8,75% - živih jedinki ženskog spola u stadiju 2; odnosno 1,25% - živih jedinki muškog spola u stadiju 2; $F=7,71$; $df=1$; $p=0,0321$). Fumigacija kamforom u tretmanu sa zrnem, rezultirala je s manje normalno razvijenih živih muških jedinki u stadiju 3 (77,50% - živih jedinki muškog spola u stadiju 3; odnosno 92,50% - živih jedinki ženskog spola u stadiju 3 $F=13,5$; $df=1$; $p=0,0104$).

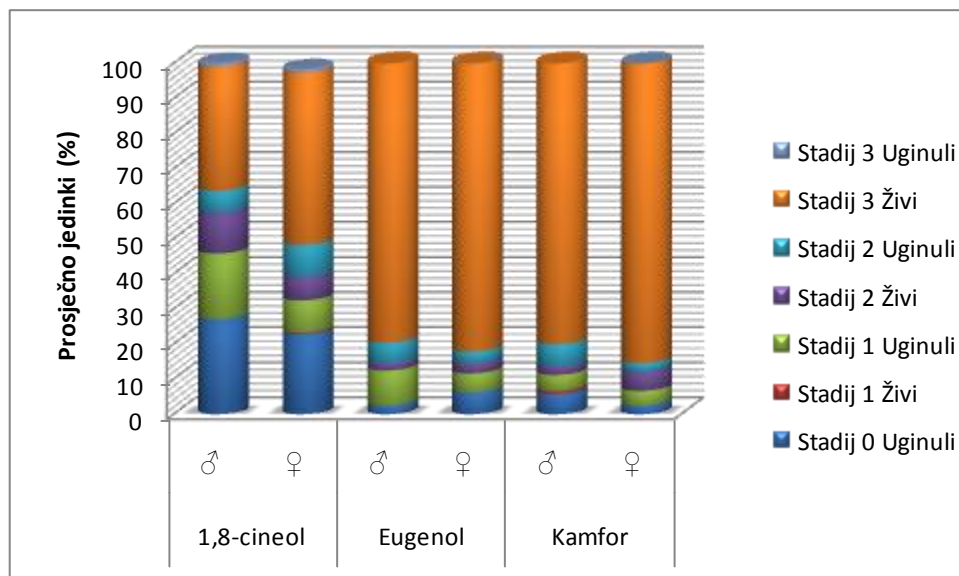
Tablica 56. Fumigantna učinkovitost kamfora po spolovima kukuljica *T. castaneum* u tretmanu sa zrnom (skala po Mandavi, 1985)

Jedinke <i>T. castaneum</i> po razvojnim stadijima (%)							
Spol	Razvojni stadij						
	Stadij 0	Stadij 1		Stadij 2		Stadij 3	
	Uginuli**	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli	Živi	Uginuli
Koncentracija 120 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	7,50±3,22a	1,25±1,25a	5,00±2,04a	0,00±0,00a	0,00±0,00a	86,25±3,75a	1,25±1,25a
♀	2,50±1,44a	0,00±0,00a	6,25±4,73a	5,00±2,88a	2,50±1,44a	83,75±8,98a	0,00±0,00a
Koncentracija 300 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	2,50±1,44a	1,25±1,25a	6,25±2,39a	6,25±3,75a	7,50±2,50a	77,50±2,50b	0,00±0,00a
♀	2,50±1,44a	0,00±0,00a	1,25±1,25a	2,50±1,44a	0,00±0,00b	92,50±3,22a	0,00±0,00a
Koncentracija 600 µl 350 ml⁻¹							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	7,50±2,50a	0,00±0,00a	2,50±2,50a	1,25±1,25b	11,25±4,73a	77,50±4,33a	0,00±0,00a
♀	2,50±1,44a	0,00±0,00a	5,00±2,88a	8,75±2,39a	5,00±2,88a	80,00±4,56a	0,00±0,00a
Prosjeck po svim koncentracijama							
	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$	$\bar{X} \pm Std.E.$
♂	5,83±0,63	0,83±0,55	4,58±0,18	2,50±1,38	6,25±1,60	80,41±0,68	0,41±0,55
♀	2,50±1,00	0,00±0,00	4,16±1,18	5,41±0,53	2,50±0,96	85,41±2,62	0,00±0,00

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

**Sve jedinke u stadiju 0 predstavljaju samo uginule kukuljice

Prosječno, razlike učinkovitosti testiranih komponenata s obzirom na spol kukuljica *T. castaneum*, u tretmanu fumigacije sa zrnom pšenice, najviše su izražene kod 1,8-cineola (Grafikon 17.). Naime, muški spol kukuljica je općenito senzibilniji na 1,8-cineol što je izraženo u većem postotku uginulih „adultoid“ jedinki i većem postotku deformiranih (živih) jedinki u stadiju imaga. Osim toga, fumigacija 1,8-cineolom je kod muškog spola rezultirala s manje normalno razvijenih živih jedinki u stadiju imaga. Razlike učinkovitosti kamfora s obzirom na spol kukuljica izražena je postotkom deformiranih jedinki, te normalno razvijenih jedinki u stadiju imaga. Muški spol je također i kod kamfora pokazao veću osjetljivost. Razlike učinkovitosti eugenola po spolovima kukuljica su najslabije izražene.



Grafikon 17. Utjecaj spolova kukuljica *T. castaneum* na učinkovitost komponenata u tretmanu sa zrnom

3.3. REZULTATI TESTA POTOMSTVA KESTENJASTOG BRAŠNARA *TRIBOLIUM CASTANEUM* (HERBST)

Nakon provedenog testa potomstva, 1,8-cineol, eugenol i kamfor su utjecali na smanjenje potomstva *T. castaneum*. Između komponenata (Tablica 57.) zabilježene su značajne razlike u njihovoj učinkovitosti (Tukey's test, $\alpha=0,05$), kao i između koncentracija pojedinih komponenata (Tukey's test, $\alpha=0,05$). Treba napomenuti da su svi pregledani uzorci potomstva u stadiju imaga bili živi i normalno razvijeni bez vidljivih deformacija na pokrillju i drugim dijelovima tijela.

Pri najnižoj koncentraciji (120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$), broj potomstva se kretao u rangu od 174,25 do 221,50 bez značajnih razlika između komponenata ($F=0,89$; $df=2$; $p=0,4442$). Pri višoj koncentraciji (300 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$), 1,8-cineol je utjecao na značajno manji broj potomstva (81) u odnosu na kamfor (227,25) ($F=6,16$; $df=2$; $p=0,0207$), dok se kod eugenola broj potomstva nije značajno razlikovao od druge dvije komponente. Treba napomenuti da je kod 1,8-cineola pri ovoj koncentraciji zabilježen značajno veći mortalitet tretiranih roditelja u odnosu na eugenol i kamfor (25,00%; 0,83%; 0,83% $F=6,82$; $df=2$; $p=0,0158$), što je najvjerojatnije i uzrok manjeg broja potomstva kod 1,8-cineola. Pri najvišoj koncentraciji (600 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$), najmanji utjecaj na broj potomstva *T. castaneum* imao je kamfor (191,00) i to značajno manje u odnosu na 1,8-cineol (72,25) i eugenol (112,00) ($F=10,61$; $df=2$; $p=0,0043$). Između 1,8-cineola i eugenola nije bilo značajne razlike u broju potomstva. Treba naglasiti da je mortalitet tretiranih roditelja i pri ovoj koncentraciji bio značajno veći kod 1,8-cineola (12,50%) u odnosu na ostale dvije komponente (0,83% - kod eugenola i 0,00% - kod kamfora) ($F=45,21$; $df=2$; $p<0,0001$). Stoga se manji broj potomstva kod 1,8-cineola djelomice može pripisati i najvećem mortalitetu roditelja, dok je kod eugenola vidljiv njegov direktan utjecaj na smanjenje broja potomstva, obzirom na značajno niži mortalitet roditelja.

Tablica 57. Utjecaj 1,8-cineola, eugenola i kamfora na potomstvo *T. castaneum* (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Koncentracija $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$	Test potomstva	Komponenta		
		1,8-cineol	Eugenol	Kamfor
		$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
120	Mortalitet roditelja (%)	0,0 \pm 0,0a	0,83 \pm 0,83a	0,0 \pm 0,0a
	Broj potomstva	174,25 \pm 73,93a	224,25 \pm 18,7a	221,5 \pm 19,62a
300	Mortalitet roditelja (%)	25,0 \pm 9,17a	0,83 \pm 0,83b	0,83 \pm 0,83b
	Broj potomstva	81,0 \pm 14,43b	132,0 \pm 45,82ba	227,25 \pm 19,4a
600	Mortalitet roditelja (%)	12,5 \pm 1,59a	0,83 \pm 0,83b	0,0 \pm 0,0b
	Broj potomstva	72,25 \pm 7,55b	112,0 \pm 20,26b	191,0 \pm 23,79a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je po redovima

U odnosu na kontrolu bez aplikacije ulja, 1,8-cineol je pri koncentracijama od 300 i 600 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$ vol. značajno utjecao na smanjenje broja potomstva (Tablica 58.). Međutim, obzirom da je pri 300 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$ vol. i mortalitet roditelja bio značajno viši nego u kontroli (25,00%; 0,00%; $F=6,6$; $df=3$; $p=0,0070$), utjecaj 1,8-cineola na smanjenje potomstva nije direktan, već je djelomice rezultat i uginuća tretiranih roditelja. Pri najvišoj koncentraciji se uočava njegov jači direktan utjecaj na broj potomstva, obzirom da pri ovoj koncentraciji nije bilo značajnih razlika u mortalitetu roditelja, a broj potomstva je opravdano niži u odnosu na kontrolu (72,25; 260,25 $F=11,5$; $df=3$; $p=0,0009$).

Eugenol je imao direktan utjecaj na smanjenje broja potomstva *T. castaneum*, obzirom da se broj uginulih roditelja nije značajno razlikovao, ali se značajno smanjio broj potomstva pri koncentracijama od 300 i 600 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$ vol., u odnosu na kontrolu. Obzirom da između dvije više koncentracije nije bilo značajnih razlika, opravdana koncentracija eugenola koja utječe na smanjenje broja potomstva *T. castaneum* bi bila 300 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$ vol.

Tablica 58. Utjecaj 1,8-cineola i eugenola na potomstvo *T. castaneum* po koncentracijama (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Komponenta	Test potomstva	Koncentracija ($\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$)			Kontrola 0
		120	300	600	
		$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	
1,8-cineol	Mortalitet roditelja (%)	0,00 \pm 0,00b	25,00 \pm 9,17a	12,50 \pm 1,59ba	0,00 \pm 0,00b
	Broj potomstva	174,25 \pm 43,93ba	81,00 \pm 14,43b	72,25 \pm 7,55b	260,25 \pm 24,75a
Eugenol	Mortalitet roditelja (%)	0,83 \pm 0,83a	0,83 \pm 0,83a	0,83 \pm 0,83a	0,00 \pm 0,00a
	Broj potomstva	224,25 \pm 18,7ba	132,00 \pm 45,82b	112,00 \pm 20,26b	260,25 \pm 24,75a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je po redovima

Kod kamfora nije zabilježena opravdana razlika u broju potomstva u odnosu na kontrolu s etanolom pripadajuće koncentracije (Tablica 59.), što ukazuje da fumigacija kamforom nema utjecaj na potomstvo tretiranog imaga *T. castaneum*.

Tablica 59. Utjecaj kamfora na potomstvo *T. castaneum* po koncentracijama i kontrola s etanolom (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Komponenta	Mortalitet roditelja (%)	Broj potomstva
	Koncentracija 120 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$	
	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$	$\bar{X} \pm \text{Std.E.}$
Kamfor	0,00 \pm 0,00a	221,50 \pm 19,62a
Kontrola ¹	2,50 \pm 1,59a	223,25 \pm 14,10a
Koncentracija 300 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$		
Kamfor	0,83 \pm 0,83a	227,25 \pm 19,40a
Kontrola ²	0,00 \pm 0,00a	257,75 \pm 38,79a
Koncentracija 600 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$		
Kamfor	0,00 \pm 0,00a	191,00 \pm 23,79a
Kontrola ³	0,00 \pm 0,00a	224,00 \pm 23,42a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za svaku koncentraciju po kolonama

1Kontrola s etanolom koncentracije 60 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$;

2Kontrola s etanolom koncentracije 150 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$;

3Kontrola s etanolom koncentracije 300 $\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$

4. RASPRAVA

4.1. BIOAKTIVNOST KOMPONENTATA ETERIČNIH ULJA NA STADIJ IMAGA KESTENJASTOG BRAŠNARA *TRIBOLIUM CASTANEUM* (HERBST)

Aromatične biljke sadrže eterična ulja u koncentracijama od 1-3% (Çakir, 1992). Stoga je potrebna velika količina biljnog materijala kako bi se proizvela dovoljna količina eteričnog ulja za komercijalne svrhe. Ipak, pojedine komponente izolirane iz eteričnih ulja imaju veću učinkovitost u odnosu na učinkovitost cjelovitog ulja. Tako je skupina grčkih autora (Papachristos et al, 2004), testirajući insekticidnu aktivnost eteričnih ulja izoliranih iz tri aromatične biljne vrste (*L. hybrida*, *R. officinalis* i *E. globulus*) protiv grahova žiška (*A. obtectus*), utvrdila da su vrijednosti LC₅₀ bile uvijek niže kod sirovog ulja u odnosu na glavne komponente izolirane iz tih ulja. Stoga su naša istraživanja usmjerena na ispitivanje učinkovitosti tri izdvojene komponente (1,8-cineol, eugenol i kamfor) koje su prisutne u eteričnim uljima različitih biljnih vrsta (lavande - *L. angustifolia*, ružmarina - *R. officinalis*, timijana - *T. vulgaris*, lovora - *L. nobilis*) uzgajane u našoj zemlji. Također smo nastojali ispitati djelovanje ovih komponenata na različite razvojne stadije *T. castaneum*, obzirom da je veliki broj znanstvenika utvrdio da među razvojnim stadijima štetnika postoje značajne razlike u osjetljivosti (Tunç, et al., 2000; Tripathi et al., 2001; Wang et al., 2006; Liu et al., 1999; Rajendran and Sriranjini, 2008; Chiam et al, 1999; Huang et al., 2000a; Islam et al, 2009).

Kontaktom aplikacijom, u našem istraživanju, ostvareni su pozitivni rezultati za sve tri testirane komponente na imago *T. castaneum*. Najbolji učinak pokazuje komponenta 1,8-cineol s maksimalnim mortalitetom (100%), pri najnižoj koncentraciji (0,2 µl/imago) i u najkraćem vremenu (2 sata nakon ekspozicije). Po učinkovitosti slijedi eugenol (100%-tni mortalitet pri 0,2 µl/imago; ekspozicijom od 24 sata), te kamfor (78,50% pri 10 µl/imago; ekspozicijom od 24 sata).

Fumigantna aktivnost 1,8-cineola, kamfora i eugenola bila je nešto slabije izražena u odnosu na kontaktnu aplikaciju. Fumigacijom u praznom prostoru, po učinkovitosti se ističe 1,8-cineol s najvišim mortalitetom od 98,50% (30 µl 350 ml⁻¹vol.), slijedi kamfor s 93,50% (120 µl 350 ml⁻¹vol.), te eugenol s mortalitetom od 0,50% (120 µl 350 ml⁻¹vol.), nakon 7 dana pregleda. Prosječno, sve tri ispitivane komponente eteričnih ulja imale su

relativno brzo početno djelovanje na imago, vidljivo već 1. dan nakon fumigacije, s ujednačenim učinkom tijekom 7 dana ekspozicije. Fumigacijom u prostoru s 50% ispunjenošću zrnom pšenice zabilježeno je općenito slabije djelovanje sve tri testirane komponente. I ovdje je najučinkovitiji bio 1,8-cineol s najvišim mortalitetom imaga (99,50% pri 300 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$), slijedi kamfor (53,00% pri 600 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$), dok eugenol u prostoru s 50% ispunjenošću zrnom pšenice nije imao letalan učinak na imago niti pri najvišoj koncentraciji.

Slične rezultate učinkovitosti 1,8-cineola, izoliranog iz biljne vrste *Artemisia annua* L., dobili su i znanstvenici Tripathi et al. (2001), gdje je imago *T. castaneum* pokazao osjetljivost i na kontaktnu i na fumigantnu aplikaciju 1,8-cineola (LD_{50} i LC_{50} vrijednosti od 108,4 μg mg^{-1} tjelesne težine imaga; odnosno 1,52 mg L^{-1} zraka). Također, slično rezultatima fumigantne učinkovitosti na imago *T. castaneum*, provedenim ovim istraživanjem, objavljuju i autori Wang et al. (2006), testirajući repelentnu i fumigantnu aktivnost eteričnog ulja biljke *A. vulgaris*, u čijem je najvećem udjelu upravo komponenta 1,8-cineol (56,5%). Naime, autori navode da je pri koncentraciji od 4,0 i 8,0 μl ml^{-1} postignut mortalitet imaga 74%; odnosno 100%, naglašavajući važnost testiranja samih komponenata ulja kao i odnos između pojedinih komponenata. Nešto drugačije rezultate u odnosu na naše, što se tiče kontaktne djelotvornosti 1,8-cineola, dobili su autori Abdelgaleil et al. (2009), koji navode da je 1,8-cineol zajedno s drugim testiranim komponentama (kamfen, kamfor i mircen) imao vrlo slabo kontaktno djelovanje na imago *T. castaneum*, dok se prema fumigantnoj toksičnosti, 1,8-cineol u njihovom pokusu pokazao kao najučinkovitiji, što je podudarno s rezultatima fumigantne učinkovitosti dobivenim u ovom istraživanju. Pozitivne rezultate, tretiranjem *T. castaneum* eteričnim uljem biljke *Lavandula spica* L. koje sadrži 40% 1,8-cineola, dobili su autori Clemente et al. (2000). Laboratorijskim testiranjem, autori Lee et al. (2003) dokazali su da se *T. castaneum* može suzbiti 1,8-cineolom, 1-fenonom i pulegonom, ali samo s visokim koncentracijama; što se djelomično slaže i s rezultatima u provedenom istraživanju, poglavito za fumigaciju u ispunjenom prostoru.

Gotovo iste rezultate kontaktne učinkovitosti eugenola, dobili su i autori Mondal i Khalequzzaman, 2010, koji su u svom istraživanju, također dobili 100%-tni mortalitet imaga s najnižom koncentracijom (0,013 cm^{-1}) i pri najdužoj ekspoziciji eugenola (48 sati). Što se tiče fumigantnog djelovanja eugenola, suprotno od rezultata ovog istraživanja, autori Ogendo et al. (2008), fumigacijom eugenola su postigli visoki mortalitet imaga *T. castaneum* (LC_{50} = 0,01 do 17 μl l^{-1} zraka 24 sata nakon tretiranja). Objašnjenje razlike u

mortalitetu imaga nakon fumigacije eugenolom između rezultata potonjih autora i ovdje provedenog istraživanja, moglo bi se protumačiti u metodici pokusa. Naime, starost imaga kojeg su autori koristili za svoja istraživanja iznosila je 0-3 dana, dok je u ovome radu starost imaga bila 2-4 tjedna. Pretpostavka je da je mlađi imago osjetljiviji na eugenol u odnosu na starije, što se moglo odraziti i na veće vrijednosti mortaliteta.

Testiranjem učinkovitosti kamfora, glavne komponente eteričnog ulja biljke *O. kilimandscharicum* na imago vrsta *S. granarius*, *S. zeamais*, *T. castaneum* i *P. truncatus*, autori Obeng-Ofori et al. (1998) u svom radu iznose rezultate visoke kontaktne toksičnosti na sve testirane vrste štetnika (od 70% do 100% - mortalitet za imago *T. castaneum* nakon 24 sata ekspozicije). Ovi rezultati se uglavnom podudaraju s provedenim istraživanjem. Kineski znanstvenici Qiantai i Yongcheng, (1998) testirali su kontaktnu učinkovitost kamfora protiv vrsta *R. dominica*, *S. zeamais* i *T. castaneum*, te su zaključili da je kamfor efikasan za suzbijanje žitnog kukuljičara i žiška, dok za vrstu *T. castaneum* ima samo repelentno djelovanje ali ne i insekticidno. Korištenim metodikom ovog istraživanja, dokazano je kako kamfor ipak ima letalno djelovanje na imago *T. castaneum*, rezultirajući mortalitetom od 78,50% (pri koncentraciji od 10 µl/imagu nakon 24 sata ekspozicije).

U provedenom istraživanju, usporedbom učinkovitosti testiranih komponenata nakon fumigacije u praznom prostoru i prostoru s 50% ispunjenosti zrnom pšenice, vidljivo je da je pri istoj koncentraciji (120 µl 350 ml⁻¹vol.) aktivnost komponenata značajno smanjena u ispunjenom prostoru. Uzrok tome je slabiji prodor para komponenata kroz međuzrneljen prostor, te djelomično i absorpcija para od strane zrna, što dovodi do smanjene raspoložive količine aktivne tvari komponenata dostatne za visoko letalno djelovanje na imago. Testirajući 1,8-cineol u ispunjenom prostoru, njegova učinkovitost je značajno manja, no s višom koncentracijom (600 µl 350 ml⁻¹vol.) ovaj nedostatak je kompenziran, te je ostvaren zadovoljavajući mortalitet imaga (99,50%). Produženje ekspozicije ne bi utjecalo na povećanje učinkovitosti, obzirom da je 1,8-cineol imao ujednačeno djelovanje tijekom svih 7 dana pregleda mortaliteta. Eugenol nije imao letalni učinak na imago fumigacijom u ispunjenom prostoru zrnom, što je i bilo za očekivati, obzirom da je i u praznom prostoru imao vrlo nisku djelotvornost (0,50%). Najveće razlike u učinkovitosti fumigacije u praznom i ispunjenom prostoru izražene su kod kamfora (93,50% - mortalitet imaga pri 120 µl 350 ml⁻¹vol. u praznom prostoru; odnosno 0,00% - mortalitet imaga pri 120 µl 350 ml⁻¹vol. u ispunjenom prostoru). Čak niti s najvišom koncentracijom nije postignut letalni učinak, stoga se kamfor može preporučiti za suzbijanje imaga *T. castaneum* samo u praznim skladišnim prostorima.

Značajan utjecaj ispunjenosti prostora na učinkovitost 1,8-cineola kao i drugih komponenata eteričnih ulja utvrdili su i drugi autori (Shaaya et al., 1997; Lee et al., 2004a; Rozman et al., 2008). Naime, autori su utvrdili da je 1,8-cineol bio značajno manje učinkovit u prostoru ispunjenom zrnom pšenice u odnosu na učinkovitost u praznom prostoru, što je u skladu i s rezultatima provedenog istraživanja. Kako bi se dodatno ispitao utjecaj različito ispunjenog prostora na učinkovitost 1,8-cineola, autori Rozman et al. (2008) koristili su fumigantne posudice ispunjene zrnom pšenice zauzimajući 50% i 95% prostora. Test kukci su bili *C. ferrugineus*, *R. dominica* i *T. castaneum*. Pri koncentraciji od 50 g m⁻³ 1,8-cineol je imao različit utjecaj na odrasle jedinke testiranih vrsta. Najučinkovitiji je bio za *C. ferrugineus*, zatim za *R. dominica*, dok je najmanju učinkovitost imao za vrstu *T. castaneum*. Vrlo dobri rezultati postignuti su tretiranjem štetnika u praznom prostoru, no u ispunjenom prostoru (50% ili 95%) zrnom pšenice, 1,8-cineol je bio manje učinkovit.

Također, u ovom istraživanju zaključci o slabijem djelovanju komponenata u ispunjenom prostoru, idu u prilog činjenici da upravo nedostatak dovoljnog tlaka para za difuziju i penetraciju kroz uskladištenu robu, predstavlja jedan od nedostataka „fumiganata“ biljnog podrijetla da bi se okarakterizirali kao idealni fumiganti (Rajendran and Sriranjini, 2008). Prates et al. (1999) su ukazali na različito isparavanje među monoterpenima pri 26±1°C; 1,8-cineol isparava vrlo brzo (2,5 sata). S druge strane, isti autori ukazuju na vrlo slab tlak para 1,8-cineola (<1 mm Hg pri 20°C), u usporedbi s fosfinom (31,92 mm Hg pri 23°C), metil bromidom (1250 mm Hg pri 20°C) i sulfuril floridom (12,087 mm Hg pri 20°C).

4.2. BIOAKTIVNOST KOMPONENTATA ETERIČNIH ULJA NA STADIJ LIČINKI KESTENJASTOG BRAŠNARA *TRIBOLIUM CASTANEUM* (HERBST)

U praksi, populacija štetnih kukaca, koja je u većoj ili manjoj količini permanentno prisutna u uskladištenoj robi, različita je obzirom na vrstu ali i razvojni stadij pojedinog štetnika. Stoga, sredstva koja se koriste za njihovu kontrolu, trebala bi biti podjednako učinkovita za sve vrste i sve razvojne stadije štetnika prisutne u trenutku tretiranja. Veliki broj istraživanja dokazuje da postoje razlike u osjetljivosti stadija ličinki u odnosu na stadij imaga istog štetnika na eterična ulja i/ili njihove komponente biljnog podrijetla (Ho et al., 1996, Huang et al., 2000; Tripathi et al., 2001; Donahaye et al., 2001; Erler, 2005; Wang et al., 2006; Stamopoulos et al., 2007; Mondal and Khalequzzaman, 2010).

Obzirom da se kod nas do sada nisu radila istraživanja učinkovitosti komponenata eteričnih ulja na niže razvojne stadije štetnika, svoja istraživanja nastojali smo usmjeriti i na stadij ličinki *T. castaneum*, te time doprinijeti značajnosti i produbiti dosadašnja istraživanja.

Kontaktom aplikacijom, ostvareni su pozitivni rezultati za sve tri testirane komponente na ličinke *T. castaneum* starosti 16 dana, ali s različitom osjetljivošću ličinki, ovisno o komponenti, koncentraciji i ekspoziciji. Najbolji je učinak postignut 1,8-cineolom; pri najnižoj koncentraciji i najkraćom ekspozicijom s mortalitetom od 99,75% (pri 0,2 μl /ličinki nakon 2 sata); odnosno 100% (pri 0,2 μl /ličinki nakon 4 sata). Po učinkovitosti slijedi eugenol ostvarivši najveći mortalitet od 98,75% (pri 5 μl /ličinki nakon 2 sata); odnosno produženjem ekspozicije sa 2 na 4 sata 99,00%, pri istoj koncentraciji. Kamfor je imao značajno niži mortalitet u odnosu na 1,8-cineol i eugenol, ostvarivši najveći mortalitet (62,75%) tek pri koncentraciji od 10 μl /ličinki nakon 24 sata.

Fumigantna aktivnost sve tri komponente bila je slabije izražena u odnosu na kontaktnu primjenu. Fumigacijom u praznom prostoru, između pojedinih komponenata, utvrđena je značajna razlika u mortalitetu ličinki. Sve tri komponente su najviši mortalitet ostvarili pri najvišoj koncentraciji (120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$); i to 1,8-cineol 84,00% (2. dan nakon fumigacije), te kamfor 54,50% i eugenol 48,00% (7. dan nakon fumigacije). Jedino je 1,8-cineol imao brzo početno djelovanje na ličinke s ujednačenim djelovanjem tijekom 7 dana ekspozicije, dok su eugenol i kamfor imali lagani porast učinkovitosti, tijekom svih 7 dana ekspozicije, stoga bi se upravo nakon toga vremena i trebala očitati njihova djelotvornost na ličinke u praznom prostoru. Fumigacijom u prostoru s 50% ispunjenošću zrnom pšenice zabilježeno je općenito slabije djelovanje sve tri testirane komponente. I ovdje je najučinkovitiji bio 1,8-cineol, zatim kamfor te eugenol. Maksimalan mortalitet ličinki ostvaren je pri najvišoj koncentraciji (600 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$); i to 1,8-cineol 53,50% (3. dan nakon fumigacije), te kamfor 68,50% i eugenol 45,00% (7. dan nakon fumigacije).

Slične rezultate kontaktnog i fumigantnog djelovanja 1,8-cineola na ličinke *T. castaneum*, dobila je i skupina indijskih autora Tripathi et al. (2001). Naime, autori su uočili i razlike u osjetljivosti među ličinkama različite starosti. Tako su 14 dana stare ličinke bile tolerantnije na kontaktno djelovanje 1,8-cineola u odnosu na 16- i 18-dana stare ličinke, te na stadij imago, s tim da su 16- i 18- dana stare ličinke bile podjednako osjetljive. Kod fumigantnog djelovanja, sve ličinke (14-18 dana starosti) bile su podjednako osjetljive, i također tolerantnije od stadija imaga. U svom radu (Tripathi et al., 2002), testirajući bioaktivnost eteričnog ulja izoliranog iz lišće biljke *Curcuma longa* L. (Var. CH-66), ukazuju na sličnu osjetljivost ličinki *T. castaneum*. Na glavne komponente, izolirane iz ovog eteričnog ulja:

mircen, p-cymen i 1,8-cineol, kontaktnom aplikacijom, ličinke (starosti 14-18 dana) su također bile tolerantnije od stadija imaga, te su postale progresivno tolerantnije sa starošću, dok su kod fumigantne aplikacije sve ličinke bile jednako osjetljive.

Testirajući komponente eteričnog ulja biljnog podrijetla (trans-anetol, timol, eugenol i cinamaldehyd) znanstvenici Mondal i Khalequzzaman (2010) u svom radu prikazali su da je eugenol u kontaktnoj aplikaciji rezultirao mortalitetom od 96,66% kod ličinki *T. castaneum* starosti 10 dana, odnosno 46,66% kod ličinki *T. castaneum* starosti 18 dana (pri koncentraciji od 0,013 mg cm⁻² i ekspoziciji od 48 sati). U fumigantnoj primjeni eugenola pri koncentraciji od 0,769 mg 650 ml⁻¹ i ekspoziciji od 48 sati, mortalitet ličinki starosti 10 dana, iznosio je 46,66%, dok kod ličinki starosti 18 dana nije bilo uginulih. Upoređujući ova istraživanja kontaktne učinkovitosti eugenola, mortalitet 16 dana starih ličinki *T. castaneum*, koje se po starosti nalaze između mlađih (starosti 10 dana) i starijih (starosti 18 dana) ličinki iz spomenutog rada, je viši (92,25% pri 1 µl/ličinki i ekspoziciji od 2 sata). Također, su provedenim istraživanjem dobiveni i bolji rezultati fumigantnog djelovanja eugenola; s višim mortalitetom (48%) ličinki pri nižoj koncentraciji (120 µl 350 ml⁻¹vol.); eugenola. Testiranjem eteričnog ulja biljke *E. rutaecarpa*, znanstvenici Liu i Ho (1999) su utvrdili da nije bilo značajnih razlika u kontaktnoj toksičnosti ulja (za vrijednost LD₅₀) između ličinki različitog uzrasta i imaga *T. castaneum*, osim za ličinke starosti 16 dana koje su bile najosjetljivije od svih testiranih stadija. Autori ovu pojavu jače osjetljivosti pripisuju činjenici da su se ličinke starosti 16 dana tijekom pokusa presvlačile. Naime, smanjena tolerancija tih ličinki bi mogla biti, kako oni navode, uslijed njihove jače ranjivosti na toksični utjecaj eteričnog ulja u trenutku kada su bile bez zaštitne sklerotinske kutikule tijekom presvlačenja. Ova pojava je također zamijećena među ličinkama *T. castaneum* tretirane s eteričnim uljem češnjaka (Ho et al., 1996) i cinamaldehyda (Huang and Ho, 1998), gdje su se ličinke također presvlačile tijekom pokusa. Iako u ovom istraživanju nije direktno uspoređivana razlika u osjetljivosti između ličinki i imaga na aplicirane komponente, prema visini mortaliteta i koncentracijama kojima je postignut najveći mortalitet kod oba stadija, može se zaključiti da su 16 dana stare ličinke u ovom pokusu pokazale nešto veću otpornost u odnosu na imago, iako su se pojedine ličinke presvlačile tijekom pokusa.

U ovom istraživanjima cilj je bio i statistički potvrditi kako je fumigantna učinkovitost komponenata slabija u ispunjenom prostoru zrnom pšenice nego u praznom prostoru, pri istoj koncentraciji (120 µl 350 ml⁻¹vol.). Tako je utvrđeno kako je fumigantna učinkovitost 1,8-cineola u ispunjenom prostoru smanjena za 3,5 puta a eugenola za čak 32 puta. Kod

kamfora je također učinak značajno smanjen u ispunjenom prostoru, ali samo u prva tri dana ekspozicije. Produženjem ekspozicije učinak kamfora je pojačan tako da 7. dana ekspozicije nije bilo značajnih razlika u djelotvornosti kamfora u praznom i ispunjenom prostoru.

Veliki broj istraživačkih radova, s komponentama biljnog podrijetla, dokazali su njihovu manju učinkovitost u prisustvu skladišnih proizvoda, kao što je pšenica, u odnosu na učinkovitost u praznim prostorima (Don-Pedro, 1996; Lee et al., 2003). Glavni razlozi tome su, slabiji prodor para kroz prostor između zrna, kako je već navedeno u poglavlju 4.1, ali i djelomice visoka sorpcija ulja ili komponentata ulja od strane uskladištene robe, što se zaključuje u radovima potonjih autora. Naime, visoka sorpcija je jedan od važnih limitirajućih faktora za aplikaciju prirodnih komponentata u većim količinama uskladištene robe. Do sada nisu vršena testiranja fumigantne učinkovitosti samih komponentata biljnog podrijetla u količinama uskladištenih proizvoda većih razmjera (Rajendran and Sriranjini, 2008).

4.3. BIOAKTIVNOST KOMPONENTATA ETERIČNIH ULJA NA STADIJ KUKULJICA KESTENJASTOG BRAŠNARA *TRIBOLIUM CASTANEUM* (HERBST)

Opće je poznato da kukci s potpunom preobrazbom prolaze u ciklusu svog razvoja kroz 4 razvojna stadija (jajšce, ličinka, kukuljica, imago). Ličinka i imago predstavljaju aktivni stadij, tijekom kojeg se štetnik intenzivno hrani, razmnožava i presvlači, odnosno ima brži metabolizam, od neaktivnih stadija (jajašce i kukuljica). Upravo su stadiji jajašca i kukuljice, kod većine kukaca, otporniji od aktivnih stadija na sredinu koja nije u optimalnim uvjetima za njihov život. Bell (2000) tako objašnjava da se razvoj štetnih kukaca nastavlja i tijekom fumigacije, upravo kroz tolerantniji neaktivni stadij. To može rezultirati, kako on navodi, njihovim eventualnim uništenjem, ukoliko je ekspozicija plina dovoljno duga da se iz neaktivnih stadija razvije aktivni, senzibilniji stadij. Stoga, za suzbijanje štetnika plinom fosfinom, preporuča podešavati ekspoziciju dovoljno dugo da se prekorači trajanje tolerantnog stadija. Propust u podešavanju vremena ekspozicije plina, može rezultirati neuspjehom kontrole štetnika, čak i pri višim koncentracijama.

Povodeći se ovim saznanjem, ovim istraživanjem provedeno je testiranje komponentata (1,8-cineola, eugenola i kamfora) eteričnih ulja na stadij kukuljice *T. castaneum* u kontaktnoj i fumigantnoj aplikaciji i to odvojeno za svaki spol. Kontaktnom aplikacijom komponentata na stadij kukuljice *T. castaneum*, 1,8-cineol i eugenol su kod oba spola jednako toksično djelovali postigavši 100% mortalitet tretiranih kukuljica (stadij 0; pri

koncentraciji od 0,2 μ l/kukuljici). Kamfor je imao značajno manji letalni učinak na kukuljice oba spola (44% jedinki u stadiju 0), te je utjecao na pojavu deformiranih jedinki u stadiju imaga (od 10% do 21% jedinki – kod muškog spola; odnosno od 13% do 29% jedinki – kod ženskog spola).

Fumigantno djelovanje 1,8-cineola, eugenola i kamfora na kukuljice *T. castaneum* kod oba spola je bilo izraženo na dva načina. Kao prvo letalno, na jedinke u stadiju kukuljice, te je tako onemogućen njihov daljnji razvoj. Kao drugi način djelovanja komponenata, zabilježen je utjecaj na ometanje normalnog razvoja kukuljica u imago, stvarajući „adultoid“ jedinke, te deformirane jedinke koje su se iz tretiranih preživjelih kukuljica razvile u imago (kod oba spola). Ove deformacije su bile slabije ili jače izražene na pokrildu razvijenog imaga. Među deformiranim jedinkama imaga bilo je i živih, no pretpostavka je da ovako deformirani imago ima slabiju reprodukciju od normalno razvijenih imaga. U prilog ovoj pretpostavci idu i zaključci istraživanja autora Fathpour i sur. (2007) koji testirajući utjecaj juvenilnog hormona piriproksifena na žoharima, ukazuju na jaku pozitivnu korelaciju između morfogenskih anomalija na krilima imaga i sterilnosti žohara.

Sve ukupno, najbolje djelovanje je ostvareno 1,8-cineolom, zatim kamforom, dok s eugenolom nije postignut zadovoljavajući učinak na testirane kukuljice.

Između spolova zabilježene su značajne razlike na učinkovitost testiranih komponenata, u oba tretmana fumigacije (u praznom prostoru i prostoru ispunjenom zrnom pšenice). Razlika u učinkovitosti među spolovima najviše je izražena kod 1,8-cineola. Naime, muški spol kukuljica je općenito senzibilniji na 1,8-cineol što je izraženo u većem postotku uginulih tretiranih kukuljica i „adultoid“ jedinki, te na kraju manjem postotku živih imaga razvijenih iz tretiranih kukuljica. Kod ženskog spola (kod fumigacije u praznom prostoru) 1,8-cineol je djelovao na veći postotak deformiranih jedinki u stadiju imaga, nego kod muškog spola. Kamfor je također komponenta čija je učinkovitost spolno uvjetovana, gdje je također muški spol pokazao veću osjetljivost. Razlika učinkovitosti između spolova bila je najmanje izražena kod eugenola.

Općenito, istraživanja učinkovitosti eteričnih ulja i njihovih komponenata na stadij kukuljica štetnika, u svijetu se provode u manjem udjelu u odnosu na stadije imaga i ličinke, a u Hrvatskoj do sada nije bilo istraživanja ovoga tipa. U Španjolskoj (Pascual-Villalobos and Robledo, 1999) su provedena istraživanja učinkovitosti biljnih ekstrakata iz 57 biljnih vrsta pripadajući 21 različitoj botaničkoj porodici na različite stadije *T.*

castaneum, između ostalog i na kukuljice. Tako je utvrđeno da su ulja biljnih vrsta, *Ononix natrix* (L.), *Lavatera cretica* (L.) i *Urginea maritima* (L.) imale 100%-tni mortalitet na stadij kukuljica.

Islam et al. (2009) su testirali fumigantnu i repelentnu djelotvornost eteričnog ulja iz biljne vrste *Coriandrum sativum* L. na jajašca, ličinke i imago *T. castaneum*. Iako nisu direktno tretirali stadij kukuljice, već ličinke, pratili su inhibiciju razvoja svih jedinki razvijenih iz tretiranih ličinki, te zaključili da je ulje polučilo 100%-tni mortalitet ličinki, kukuljica i imaga pri koncentraciji od 0,08 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Turski znanstvenici (Isikber et al., 2006) su ispitali fumigantnu toksičnost eteričnih ulja iz lovora *Laurus nobilis* (L.) i ružmarina *Rosmarinus officinalis* (L.) na sve razvojne stadija *T. confusum*. Glavna komponenta ulja obje biljne vrste je 1,8-cineol, te je utvrđeno da je stadij kukuljice bio najtolerantniji na ulje ružmarina, s letalnim vremenom od 120,02 sata za vrijednost LD₉₀, dok je kod ulja lovora stadij kukuljice bio najsenzibilniji.

Također na vrsti *T. confusum* provedeno je istraživanje bioaktivnosti monoterpena (terpinen-4-ol, 1,8-cineol, linalol, R-(+)-limonen i geraniol) na različite stadije, između ostalih i na stadij kukuljice (Stamopoulos et al., 2007). Autori navode da je 1,8-cineol, kao i terpinen-4-ol, rezultirao većim mortalitetom jedinki u stadiju kukuljica u odnosu na jedinke u stadiju „adultoida“. U našem istraživanju, rezultati također pokazuju isto djelovanje 1,8-cineola za oba spola kukuljica *T. castaneum*. Nadalje, autori zaključuju da su kukuljice manje tolerantne od ličinki (L5 i L7 razvojnog stadija), pokazujući spolnu neovisnost, te da su imale podjednaku osjetljivost kao i stadij imaga. Naši rezultati, upravo govore suprotno; općenito, uzimajući u obzir mortalitet tretiranih kukuljica, stadij kukuljica kod oba spola je bio tolerantniji u odnosu na ličinke 16 dana starosti i na imago. Također, kukuljice su ovisno o spolu pokazale različitu osjetljivost prema testiranim komponentama i to najviše izraženu kod 1,8-cineola. Ono što je u našim rezultatima podudarno sa rezultatima potonjeg rada jest činjenica da toksičnost monoterpena ima karakteristike djelovanja juvenilnih hormona. Ustvari, odgoda morfogeneze u stadiju kukuljice i pojava „adultoida“ i deformiranih jedinki u stadiju imaga može biti objašnjeno pretpostavkom direktnog utjecaja na hormonalni sustav slično utjecaju regulatora rasta kukaca (Bowers, 1969). Ovaj utjecaj uočili su i Amos et al. (1974) nakon miješanja monoterpena s hranom za *T. castaneum* i *T. confusum*, te drugi autori koji su radili testove s hidroprenom (Bell and Edwards, 1999; Arthur, 2003; Arthur and Dowdy, 2003). Pojava različitih deformacija na pokrildu, kao i prijelaznih razvojnih oblika, je vrlo česta u kukaca

koji su preživjeli tretmane s insekticidima. Organofosforni insekticid, pirimifos-metil je u tretiranim kukcima, uključujući *Tribolium* vrste, također rezultirao morfoogenetičkim anomalijama (Khan, 1981; Mondal, 1984; Rahman, 1992). Potvrđeno je da i regulatori rasta kukaca, utječu na pojavu različitih morfoloških anomalija na tretiranim kukcima (Stall, 1975).

Činjenica da testirani monoterpeni u našim istraživanjima imaju odlike regulatora rasta, ne bi se trebala zanemariti, naročito kod komponente kamfor, koja nije rezultirala visokim letalnim učinkom na štetnika, a imala je značajno djelovanje na pojavu „adultoid“ i deformiranih jedinki. Upravo bi ova činjenica mogla predstavljati osnovu za daljnja istraživanja u smislu miješanja više komponenata eteričnih ulja s različitim načinom djelovanja u svrhu pojačanja toksičnog učinka na štetnika, ili pak moguće pojave sinergizma među komponentama.

4.4. UTJECAJ KOMPONENATA ETERIČNIH ULJA NA POTOMSTVO KESTENJASTOG BRAŠNARA *TRIBOLIUM CASTANEUM* (HERBST)

Fumigantnim djelovanjem testiranih komponenata zabilježen je utjecaj na broj potomstva *T. castaneum*. Između komponenata zabilježene su značajne razlike u njihovoj učinkovitosti, kao i između koncentracija pojedinih komponenata (Tukey's test, $\alpha=0,05$). Treba napomenuti da su svi pregledani uzorci F1 generacije imaga bili živi i normalno razvijeni bez vidljivih deformacija na pokrildu i drugim dijelovima tijela. Pri koncentraciji 300 μl 350 ml^{-1}vol . 1,8-cineola i eugenol broj potomstva (81; odnosno 132) je značajno smanjen u odnosu na kontrolu bez aplikacije ulja (260,25). Kamfor nije imao utjecaj na smanjenje broja potomstva tretiranog imaga *T. castaneum*, obzirom da nije bilo značajnih razlika u broju potomstva u odnosu na kontrolu s etanolom pripadajuće koncentracije.

Komponenta 1,8-cineol je prosječno najviše utjecala na smanjenje broja potomstva (109,08), slijedi eugenol (165), te kamfor (213,08). Treba napomenuti kako je kod 1,8-cineola zabilježen značajno veći mortalitet tretiranih roditelja (pri 300 i 600 μl 350 ml^{-1}vol .) u odnosu na eugenol i kamfor, što je djelomično i uzrok manjeg broja potomstva kod 1,8-cineola. Eugenol je imao direktan utjecaj na smanjenje broja potomstva, obzirom da je zabilježeno značajno manje ugibanje roditelja u odnosu na 1,8-cineol. Uspješnost 1,8-cineola, eugenola ali i kamfora na smanjenje broja potomstva *T. castaneum* dokazali su i radovi stranih autora, bilo da se radilo o djelovanju jedne komponente samostalno ili kao

djelovanje komponente u sastavu cjelokupnog eteričnog ulja. Tako su Tripathi et al. (2002) ispitujući bioaktivnost eteričnog ulja iz lišća biljke *C. longa* utvrdili njegov utjecaj na potomstvo *T. castaneum*, *S. oryze* i *R. dominica*. Glavne sastavnice ovoga ulja su komponente mircen, p-cimen i 1,8-cineol. Broj potomstva F1 generacije imaga, koji su se razvili iz tretiranih media, je smanjen s porastom koncentracije. Produkcija potomstva sve tri testirane vrste je potpuno zaustavljena pri koncentraciji od 40,5 mg g⁻¹ hrane. Također, među potomstvom nisu uočene deformacije u razvoju, što ukazuje, kako autori navode, da je suzbijanje potomstva najvjerojatnije nastalo uslijed toksičnog djelovanja ulja na jajašca. Utjecaj na potomstvo utvrdili su i autori Huang et al. (1998), testirajući toksični i protuizjedajući učinak ulja muškarnog oraščića na vrste *T. castaneum* i *S. zeamais*. Produkcija potomstva je značajno smanjena (p<0,05) s povećanjem koncentracije, a potpuno suzbijanje potomstva je zabilježeno pri 1,05 g 100 g⁻¹ riže za *T. castaneum*. Jedna od komponenti prisutna u sastavu eteričnog ulja testiranog začina je i eugenol, koji je i u našem testu rezultirao smanjenjem broja potomstva *T. castaneum*.

Potpuno drugačije rezultate od naših, obzirom na utjecaj kamfora na potomstvo, objavili su autori Obeng-Ofori et al. (1998). Naime kamfor apliciran na zrno pšenice i kukuruza, potpuno je zaustavio razvoj jajašaca i nižih razvojnih stadija, te razvoj potomstva *S. granarius*, *S. zeamais*, *P. truncatus* i *T. castaneum*.

Jbilou et al. (2006) su uočili da su ekstrakti ljekovitih biljaka *P. harmala*, *A. iva* i *A. baetica* potpuno zaustavili razvoj potomstva *T. castaneum*, te objašnjavaju da su eterična ulja ili spriječila ovipoziciju ili djelovala letalno na ličinke ispiljene iz jajašaca položena na tretirani medij.

Ovim istraživanjem dokazano je kako su komponente 1,8-cineol i eugenol utjecale na značajno smanjenje potomstva kestenjastog brašnara *T. castaneum* u odnosu na kontrolu. Jedan od razloga se pripisuje uginuću roditelja kod 1,8-cineola, te činjenici da kod razvijenog potomstva nisu uočene deformacije pa se pretpostavlja da komponente (1,8-cineol i eugenol) nisu imale utjecaj na niže razvojne stadije (ličinke i kukuljice). Ovo saznanje otvara mogućnost daljnjih istraživanja i produbljenja pitanja načina djelovanja 1,8-cineola i eugenola na potomstvo kestenjastog brašnara. Postavljanjem odvojenih testova za svaki razvojni ciklus *T. castaneum* (od polaganja jajašaca do razvoja imaga), dobio bi se prošireni odgovor usmjeren na ispitivanje utjecaja ovih komponenata na smanjeno polaganje jajašaca, na njihovo uginuće ili pak na smrtnost tek ispiljenih ličinki.

5. ZAKLJUČCI

Istraživanjima bioaktivnosti komponenata 1,8-cineola, kamfora i eugenola na razvojne stadije kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst) možemo izvesti slijedeće zaključke, kao odgovore na postavljene ciljeve:

1. Utvrđena je insekticidna (kontaktna i fumigantna) učinkovitost 1,8-cineola, kamfora i eugenola na razvojne stadije kestenjastog brašnara *T. castaneum*.
 - a. Kontaktnom aplikacijom ostvareni su pozitivni rezultati za sve tri testirane komponente na sva tri stadija (imago, ličinka, kukuljica) kestenjastog brašnara *T. castaneum*, a redoslijed komponenata po učinkovitosti je slijedeći: 1,8-cineol>eugenol>kamfor.
 - b. Fumigantna aktivnost sve tri komponente bila je slabije izražena u odnosu na kontaktnu primjenu, a redoslijed komponenata po učinkovitosti kod svih razvojnih stadija kestenjastog brašnara *T. castaneum* je slijedeći: 1,8-cineol> kamfor > eugenol.
2. Fumigacijom u prostoru s 50% ispunjenošću zrnom pšenice zabilježeno je slabije djelovanje sve tri testirane komponente kod svih razvojnih stadija u odnosu na fumigaciju u praznom prostoru. Najbolji učinak je imao 1,8-cineol, zatim kamfor, te eugenol, s tim da kod stadija imaga, eugenol nije imao letalan učinak. Kod ličinki, učinkovitost 1,8-cineola je u ispunjenom prostoru smanjena za 3,5 puta a eugenola za čak 32 puta, dok se učinkovitost kamfora nije značajno mijenjala u ispunjenom prostoru.
3. Toksičan utjecaj 1,8-cineola, kamfora i eugenola na kukuljice kestenjastog brašnara *T. castaneum* bio je izražen na dva načina: letalno i s direktnim utjecajem na metamorfozu kukuljica u imago, rezultirajući pojavom „adultoid“ jedinki, kao i deformiranih jedinki.
4. Između spolova kukuljica zabilježene su značajne razlike u fumigantnoj učinkovitosti testiranih komponenata, i to najjače kod 1,8-cineola, te kamfora, a najslabije kod eugenola. Među spolovima, općenito je muški spol kukuljica senzibilniji na aplicirane komponente. Kod ženskog spola je uočeno više deformiranih jedinki (u tretmanu fumigacije kamforom).

5. Između sva tri testirana stadija kestenjastog brašnara *T. castaneum*, općenito, najtolerantiji je stadij kukuljice i na kontaktnu i fumigantnu aplikaciju komponentata. Izuzetak je stadij imaga koji je najveću tolerantnost imao samo na eugenol u fumigantnoj aplikaciji.
6. Komponente 1,8-cineol i eugenol su utjecale na smanjenje broja potomstva F1 generacije kestenjastog brašnara *T. castaneum*, dok kamfor nije imao utjecaj na broj potomstva.
7. Općenito, komponenta 1,8-cineol (u odnosu na eugenol i kamfor) je u svim tretmanima i za sve razvojne stadije kestenjastog brašnara *T. castaneum* bila najučinkovitija, s najbržim početnim djelovanjem i pri najnižim koncentracijama. Nadalje, ispunjenost prostora zrnom pšenice je najmanje utjecala na smanjenje učinkovitosti 1,8-cineola, što ukazuje da ova komponenta ima najjači prodor para kroz zrnenu masu u odnosu na druge dvije komponente. Također, 1,8-cineol je najviše utjecao na smanjenje potomstva kestenjastog brašnara *T. castaneum*.
8. Generalno gledajući, kamfor je imao bolju učinkovitost u fumigantnoj nego u kontaktnoj aplikaciji, ali samo na stadij imaga kestenjastog brašnara *T. castaneum*. Na ostale stadije je podjednako djelovao u oba načina aplikacije. Osim toga, kamfor je kod kukuljica ženskog spola najviše djelovao na pojavu deformiranih jedinki u odnosu na ostale komponente.
9. Uspješnost komponente eugenol u kontroli kestenjastog brašnara *T. castaneum*, ogleda se u kontaktnoj aplikaciji (podjednako učinkovito za sve razvojne stadije brašnara), kao i u smanjenju broja potomstva. U fumigantnoj aplikaciji eugenol, generalno, nije bio učinkovit.
10. Prema navedenim rezultatima, 1,8-cineol ima visoki potencijal u kontroli kestenjastog brašnara *T. castaneum* (u svim tretmanima za sve razvojne stadije i potomstvo), nadalje kamfor bi se mogao primijeniti u fumigantnoj aplikaciji za suzbijanje imaga *T. castaneum* (u praznom prostoru), a eugenol u kontaktnoj aplikaciji za kontrolu svih razvojnih stadija, te u fumigantnoj primijeni za smanjenje broja potomstva *T. castaneum*. Na temelju njihove djelotvornosti, ove komponente predstavljaju osnovu za iznalaženje novih aktivnih tvari kao alternativu dosadašnjim konvencionalnim sredstvima za zaštitu uskladištenih proizvoda od skladišnih štetnika.

6. LITERATURA

1. Abdelgaleil, S.A.M., Mohamed, M.I.E., Badawy, M.E.I., El-arami, S.A.A. (2009): Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. *Journal of Chemical Ecology* 35: 518-525.
2. Abeywickrama, K., Adhikari, A.A.C.K., Paranagama, P., Gamage, C.S.P. (2006): The efficacy of essential oil of *Alpinia calcarata* (Rosc.) and its major constituent, 1,8-cineole, as protectants of cowpea against *Callosobruchus maculatus* (L.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Plant Science* 86 (3): 824-827.
3. Akinkurolere, R.O., Xie Jun, Yi Shixiao, Hongguang, Y., Hongyu, Z (2008): Fumigant activities of three plant powders against stored grain beetles. *Proceedings of the 8th International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Product – CAF 2008*. Chengdu, China, September 21-26, 2008: 114-119.
4. Alabi, T., Michaud, J.P., Arnaud, L., Haubruge, E. (2008): A comparative study of cannibalism and predation in seven species of flour beetle. *Ecological Entomology* 33: 716-716.
5. Amos, T.G., Williams, P., Du Guesclin, P.B., Schwarz, M. (1974): Compounds related to juvenile hormone: activity of selected terpenoids on *Tribolium castaneum* and *T. confusum*. *Journal of Economic Entomology* 67: 474-476.
6. Arnason, J.T., Philogéne, B.J.R., Morand, P. (1989): *Insecticides of Plant Origin*. American Chemical Society. Washington, D.C.
7. Arthur, F.H. (2003): Efficacy of volatile formulation of hydroprene (Pointsource™) to control *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Journal of Stored Product Research* 39: 205-212.
8. Arthur, F.H., Dowdy, A.K: (2003): Impact of high temperatures on efficacy of cyflithrin and hydroprene applied to concrete to control *Tribolium castaneum* (Herbst), *Journal of Stored Product Research* 39: 193-204.
9. Bećirević-Lačan, M., Jug, M. (2007): *Oblikovanje lijekova, praktikum*, Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-beiokemijski fakultet, Zagreb.
10. Beeman, R.W., Haas, S., Friesen, K. <http://bru.gmpcr.ksu.edu/proj/tribolium/wrangle.asp>
11. Bell, C.H. (1978): Limiting concentrations for fumigant efficiency in the control of insect pests. In: *Proceedings of the Second International Working Conference on Stored-Product Entomology*. Ibadan, Nigeria, 1978: 182-192.
12. Bell, C.H. (1994): A review of diapause in stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* 30: 99-120.

13. Bell, C.H. and Savvidou, N. (1999): The toxicity of Vikane (sulfuryl fluoride) to age groups of eggs of the Mediterranean flour moth (*Ephesia kuehniella*). *Journal of Stored Products Research* 12: 91-94.
14. Bell, H.A.; Edwards, J.P. (1999): The activity of (S)-hydroprene space spray against three stored products pests in a simulated food production environment, *Journal of Stored Products Research* 35: 117-126.
15. Bell, C.H. (2000): Fumigation in the 21st century. *Crop Protection* 19: 563-569.
16. Bensky, D., Gamble, A., Kaptchuk, T., Bensky, L.L. (1986): *Chinese herbal medicine materia medica*. Eastland Press. Seattle, Washington.
17. Bodenheimer, F.S. (1928): *Materialen zur Geschichte der Entomologie bis Linne*, Berlin: W. Junk. In: Panagiotakopulu, E., Buckland, P.C., Day, P.M. (1995): Natural insecticides and insect repellents in Antiquity: a review of the evidence. *Journal of Archaeological Science* 22: 705-710.
18. Bowers, W.S. (1969): Juvenile hormone: activity of aromatic terpenoid ethers. *Science* 164: 323-325.
19. Brattsten, L.B. (1983): Cytochrome P-450 involvement in the interaction between plant terpenes and insect herbivores. *Plant Resistance to Insects*: 173-195. ACS (American Chemical Society). Washington, DC.
20. Bucher, G. (2006): The beetle book. <http://wwwuser.gwdg.de/~gbucher1/tribolium-castaneum-beetle-book1.pdf>
21. Bullington, S.W. (1998): A new system to protect stored cocoa beans from insects without use of methyl bromide. In: *Proceedings of the 1998 Annual International Research Conference on Methyl bromide alternatives and emissions reductions*, December 7-9, 1998, Orlando, FL: 88-89.
22. Çakir, C. (1992): Investigations on the fungitoxic potentials of some plants occurring in Antalya. M.Sc. Thesis, Akdeniz University, Antalya (in Turkish).
23. Chiam, W.Y., Huang, Y., Chen, S.X., Ho, S.H. (1999): Toxic and antifeedant effect of allyl disulfide on *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), *Journal of Economic Entomology* 92: 239-245.
24. Clemente, S., Broussalis, A., Martino, V., Ferrearo, G., Mareggiani, G. (2000): Identification of chemical fraction from aromatic herbs with insecticidal activity against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Proceedings of the 21th International Congress of Entomology*, (AICE 2000), Foz do Iguassu, Brazil, pp: 331.
25. Coats, J.R., Karr, L.L. Drewes, C.D. (1991): Toxicity and neurotoxic effects of monoterpenoids: in insects and earthworms. *ACS Symposium series - American Chemical Society* (449): 305-316.
26. David, R., Trapp, E. (1984): *Evidence Embalmed*. Manchester: Manchester University Press.

-
27. Donahaye, E.J., Navarro, S, Leesch, J.G. (2001): Response of *Tribolium castaneum* and *Sitophilus zeamais* to potential fumigants derived from essential oils of spices. Proceedings of International Conference of Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products; Fresno, CA. 29 October-3 November, 2000, CA, U.S.A., pp 119-124.
 28. Don-Pedro, K.N. (1996): Fumigant toxicity of citruspeel oil components. *Pesticide Science* 46: 213-223.
 29. Dunkel, F.V., Sears, J. (1998): Fumigant properties of physical preparations from mountain big sagebrush *Artemisia tridentate* Nutt. spp. Vaseyana (Rydb.) beetle for stored grain insects. *Journal of Stored Products Research* 34: 307-321.
 30. Ebbell, B. (1937): *The Papyrus Ebers*. London: Oxford University Press. In: Panagiotakopulu, E., Buckland, P.C., Day, P.M. (1995): Natural insecticides and insect repellents in Antiquity: a review of the evidence. *Journal of Archaeological Science* 22: 705-710.
 31. El-Nahal, A.K.M., Schmidt, G.H., Risha, E.M. (1989): Vapours of *Acorus calamus* oil – a space treatment for stored product insect. *Journal of Stored Products Research* 25: 211-216.
 32. Emekci, S., Navarro, E., Donahaye, E., Rinder, M., Azrieli, A. (2002): Respiration of *Tribolium castaneum* (Herbst) at reduced oxygen concentrations. *Journal of Stored Products Research* 38: 413-425.
 33. Enan, E.E. (2004): Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. *Archives of insect Biochemistry and Physiology* 59: 161-171.
 34. Erler, F. (2005): Fumigant activity of six monoterpenoids from aromatic plants in Turkey against the two stored-product pests confused flour beetle *Tribolium confusum* and mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*. *Journal of Plant Diseases and protection* 1112: 602-611.
 35. Fathpour, H., Noori, A.; Zeinali, B. (2007): Effects of a juvenoid pyriproxyfen on reproductive organ development and reproduction in German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *Iranian Journal of Science&Technology, Transaction A*. 31: 89-98.
 36. Fields, P.G. (2006): Effect of *Pisum sativum* fractions on the mortality and progeny production of nine stored-product beetles. *Journal of Stored Products Research* 42(2): 86-96.
 37. Gibson Ann, Doran J. C., Bogsanyi D. (1991): Estimation of the 1,8-cineole yield of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. leaves by multiple internal reflectance infrared spectroscopy. *Flavour and Fragrance Journal* 6(2): 129.
 38. Grainge, M. and Ahmed, S. (1988): *Handbook of Plants with Pest-control Properties in Arthropods*. FAO Rome.
 39. Hagstrum, D.W. and Subramanyam, B. (2006): *Fundamentals of Stored-Product Entomology*. AACC International. St. Paul, Minnesota, USA: 15.
-

-
40. Harborne, J.B., Boulter, D., Turner, B.L. (1971): Chemotaxonomy of the *Leguminosae*. Academic Press Inc., London.
 41. Hayashi, N. (1966). A contribution to the knowledge to the larvae of Tenebrionidae occurring in Japan (Coleoptera: Cucujoidea). PhD Thesis- Hokkaido University. Insecta Matsumurana, Supplement 1, July 1966.
 42. Ho, S.H., Ma, Y., Goh, P.M., Sim, K.Y. (1995): Star anise, *Illicium verum* Hook F. as a potential grain protectant against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. Postharvest Biology & Technology 6(3-4): 341-347.
 43. Ho, S.H., Koh, L., Ma, Y., Huang, Y., Sim, K.Y. (1996): The oil of garlic, *Allium sativum* L. (*Amaryllidaceae*), as a potential grain protectant against *Tribolium castaneum* (Herbst.) and *Sitophilus zeamays* (Motsch.) Postharvest Biology and Technology 9: 41-48.
 44. Houghton, P.J., Ren, Y., Howes, M.J. (2006): Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. Natural Products Reports Articles 23: 186-199.
 45. Huang, Y., Ho, S.H. (1998): Toxicity and antifeedant activities against the grain storage insects, *Tribolium castaneum* (Herbst.) and *Sitophilus zeamais* Motsch. Journal of Stored Products Research 34(1): 11-17.
 46. Huang, Y., Ho, S.H., Kini, R.M. (1999): Bioactivity of isosafrole and isosafrole on *Sitophilus zeamays* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Economic Entomology 92: 676-683.
 47. Huang, Y., Lam, S.L. and Ho, S.H. (2000): Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). Journal of Stored Product Research 36(2): 107-117.
 48. Huang, Y., Chen, S.X., Ho, S.H. (2000a): Bioactivities of methyl allyl disulfide and diallyl trisulfide from essential oil of garlic to two species of stored-product pests, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Economic Entomology 93(2): 537-543.
 49. Huang, Y., Ho, S.H., Lee, H.C., Yap, Y.L. (2002): Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Stored Products Research 38: 403-412.
 50. Huang F., Subramanyam, B. (2003): Effects of delayed mating on reproductive performance of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Stored Products Research 39(1): 53-63.
 51. Isikber, A.A., Alma, M.H., Kanat, M., Karci, A. (2006): Fumigant toxicity of essential oils from *Laurus nobilis* and *Rosmarinus officinalis* against all life stages of *Tribolium confusum*, Phytoparasitica 34(2): 167-177.
-

-
52. Isikber, A.A., Ozder, N, Saglam, O. (2009): Susceptibility of eggs of *Tribolium confusum*, *Ephestia kuehniella* and *Plodia interpunctella* to four essential oil vapours. *Phytoparasitica* 37(3): 231-239.
 53. Islam, M.S., Hasan, M.M., Xiong, W., Zhang, S.C., Lei, C.L. (2009): Fumigant and repellent activities of essential oil from *Coriandrum sativum* (L.) (*Apiaceae*) against red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: *Tenebrionidae*), *Journal of Pest Science* 82(2): 171-177.
 54. Isman, M.B. (2000): Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19: 603–608.
 55. Isman, M.B. (2008): Botanical insecticides: for richer, for poorer. *Pest Management Science*, 64(1): 8-11.
 56. Jacobson, M. (1989): Botanical pesticides: past, present, future. *Insecticides of Plant Origin* American Chemical Society. Washington, DC: 1-10.
 57. Jbilou, R., Ennabili, A., Sayah, F. (2006): Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *African Journal of Biotechnology* 5(10): 936-940.
 58. Jefferson, D. (2000): Botanical Insecticides. www.agnr.umd.edu
 59. Johnson, J.A., Wofford, P.L., Gill, R.F. (1995): Development thresholds and degree-day accumulations of Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) on dried fruits and nuts. *Journal of Economic Entomology* 88: 734-741.
 60. Kalinović, I., Rozman, V. (1999): Tradicionalni pesticidi biljnog podrijetla. *Zbornik radova seminara ZUPP, 1999, Crikvenica*: 161-172.
 61. Kalinović, I., Rozman, V. (2002): Entomofauna on stored wheat in republic of Croatia. VIIth european congress of entomology – congress abstracts, Thessaloniki, Greece: 330.
 62. Karunakaran, C., Jayas, D.S., White, N.D.G. (2004): Identification of wheat kernels damaged by the red flour beetle using x-ray images. *Biosystems Engineering* 87(3): 267-274.
 63. Khan, A.R. (1981): The combined action of organophosphorous insecticides and microsporidians on *Tribolium castaneum* Herbst. PhD. thesis , University of Newcastle upon Tyne.
 64. Klocke, J.A., Darlington, M.V. and Balandrin, M.F. (1987): 1,8-cineole (eucalyptol), a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile oil of *Hemizonia titchii* (*Asteraceae*). *Journal of Chemical Ecology* 13: 2131-2141.
 65. Korunić, Z., Rozman, V., Kalinović, I. (2008): The potential use of natural essential oils in the fumigation of stored agricultural products. *Proceedings of the 8th International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, Chengdu, China, September 21-26, 2008*: 511-519.
-

-
66. Korunić, Z. (1990): Štetnici uskladištenih poljoprivrednih proizvoda: Biologija, ekologija i suzbijanje. *Gospodarski List – Novinsko izdavačko poduzeće Zagreb, Trg Republike 3*
 67. Koul, O. (2004): Biological activity of volatile di-*n*-propyl disulfide from seeds of neem, *Azadiracta indica* (Meliaceae), to two species of stored grain pests, *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Economic Entomology* 97: 1142-1147.
 68. Lee, B.H., Annis PC., Tumaalii F. (2003): The potential of 1,8-cineole as a fumigant for stored wheat. *Stored Grain in Australia. Proceedings of the Australian Postharvest Technical Conference, 25-27 June, 2003, Canberra, CSIRO Stored Grain Research Laboratory, Canberra, Australia: 230-234.*
 69. Lee B.H., Annis PC., Tumaalii F., Choi WS. (2004): Fumigant toxicity of essential oils from the *Myrtaceae* family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research* 40(5): 553-564.
 70. Lee B.H., Annis PC., Tumaalii F., Lee, S.E. (2004 a): Fumigant toxicity of *Eucalyptus blakelyi* and *Melaleuca fulgens* oils and 1,8-cineol against different development stages of rice weevil *Sitophilus oryzae*. *Phytoparasitica* 32: 498-506.
 71. Leelaja, B.C., Rajashekar, Y., Rajendran, S. (2007): Detection of eggs of stored-product insects in flour with staining techniques. *Journal of Stored Products Research* 43(3): 206-210.
 72. Liu, Z.L., Ho, S.H. (1999): Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook f. et Thomas against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motsch. and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research* 35(4): 317-328.
 73. Lopez, M.D., Contreras, J., Pascual-Villalobos, M.J. (2010 a): Selection for tolerance to volatile monoterpenoids in *Sitophilus oryzae* (L.), *Rhizopertha dominica* (F.) and *Cryptolestes pusillus* (Schönherr), *Journal of Stored Products Research* 46(1): 52-58.
 74. Lopez, M.D., Jordan, M.J., Pascual-Villalobos, M.J. (2008): Toxic compound in essential oils of coriander, caraway and basil active against stored rice pests. *Journal of Stored Products Research* 44: 273-278.
 75. Lopez, M.D., Pascual-Villalobos, M.J. (2010): Mode of action of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implication for pest control. *Journal of Stored Products Research* 31(2): 284-288.
 76. Lyon, W.F. (2000): Confused and Red flour beetles. *Ohio State University Extension Fact Sheet. HYG-2087-97.*
 77. Mandava, N. B. (1985): *CRC Handbook of Natural Pesticides Methodes. In: Theory Practice and Detection. CRC Press, Inc, Boca Raton, FL.*
-

-
78. Manzoomi, N., Ganbalani, G.N., Dastjerdi, H.R., Fathi, S.A:A. (2010): Fumigant toxicity of essential oils of *Lavandula officinalis*, *Artemisia dracunculus* and *Heracleum persicum* on the adults of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: *Bruchidae*). *Munis Entomology and Zoology* 5(1): 118-122.
 79. Mason, L.J. (2003): Grain insect fact sheet E-224-W: red and confused flour beetles, *Tribolium castaneum* (Bhst.) and *Tribolium confusum* Duval. Purdue University, Department of Entomology. <http://extension.entm.purdue.edu/publications/E-224.pdf>.
 80. Matthews, G.A., Hislop, E.C. (1993): Application technology for crop protection. CAB International, Wallingford, UK: 305-315.
 81. McCarron, M., Mills, A. J., Whittaker, D., Sunny, T. P., Verghese, J. (1995): Comparison of the monoterpenes derived from green leaves and fresh rhizomes of *Curcuma longa* L. from India. *Flav. Frag. J.* 10: 355-357.
 82. Michaelides, P.K., Wright, D.J. (1997): Activity of soil insecticides on eggs of *Diabrotica undecimpunctata howardi*: effects on embryological development and influence of egg age. *Pesticide Science* 49: 1-8.
 83. Misra, G. and Pavlostathis, S.G. (1997): Biodegradation kinetics of monoterpenes in liquid and soil systems. *Applied Microbiology and Biotechnology* 47: 572-577.
 84. Moharramipour, S., Taghizadeh, A., Meshkatalsadat, M.H., Fathipour, Y., Talebi, A.A. (2009): Repellent activity and persistence of essential oil extracted from *Prangos acaulis* to three stored-product beetles. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture* 3(2): 202-204.
 85. Mondal, K.A.M.S.H. (1984): Effects of methylquinone, aggregation pheromone and pirimiphos-methyl on *Tribolium castaneum* Herbst larvae. Ph.D. thesis, University of Newcastle upon Tyne.
 86. Mondal, M., Khalequzzaman, M. (2010): Toxicity of naturally occurring compounds of essential oil against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Biological Sciences* 10(1): 10-17.
 87. Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone layer. UNEP (1995); Report of the Methyl Bromide, Technical Options Committee pursuant to Article 6 of the Montreal Protocol Decision IV/13.
 88. Moreira, M.D., Picanco, M.C., Brabosa, L.C.A. (2007): Plant compounds insecticide activity against Coleoptera pests of stored products. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(1): 909-915.
 89. Murray B. Isman (2000): Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19(8-10): 603-608.
-

-
90. Murugan, K., Murugan, P., Noortheen, A. (2007): Larvicidal and repellent potential of *Albicia amara* Boivin and *Ocimum basilicum* L. against dengue vector, *Aedes aegypti* (insecta: Diptera: *Culicidae*). *Bioresource Technology* 98: 198-201.
 91. Nansen, C., Phillips, T.W. (2003): Ovipositional responses of the Indianmeal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) to oils. *Annals of the Entomological Society of America* 96: 524-531.
 92. Navarro, S. (2006): New global challenge to the use of gaseous treatments in stored products. *Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored Product Protection, Campinas, Brazil, 2006*: 495-509.
 93. Negahban, M., Moharramipour, S., Sefidkon, F. (2007): Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* 43: 123-128.
 94. Obeng-Ofori, D., Reichmuth, CH. (1999): Plant oils as potentiation agents of monoterpenes for protection of stored grains against damage by stored product beetle pests. *International Journal of Pest Management* 45(2): 155-159.
 95. Obeng-Ofori, D., Reichmuth, CH., Bekele, A.J., Hassanali, A. (1998): Toxicity and protectant potential of camphor, a major component of essential oil of *Ocimum kilimandscharicum*, against four stored product beetles. *International Journal of Pest Management* 44(4): 203-209.
 96. Ogendo, J.O., Kostyukovsky, M., Ravid, U., Matasyoh, J.C., Deng, A.L., Omolo, E. O., Kariuki, S.T., Shaaya, E. (2008): Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two of its constituents against five insect pests attacking stored products. *Journal of Stored Products Research* 44: 328-334.
 97. Owolabi, M.S., Oladimeji, M.O., Lajide, L., Singh, G., Isidorov, V.A. (2009): Bioactivity of three plant derived essential oils against the maize weevils *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) and cowpea weevils *Callosobruchus maculatus* (Fabricius). *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 8(9): 828-835.
 98. Panagiotakopulu, E., Buckland, P.C., Day, P.M. (1995): Natural insecticides and insect repellents in Antiquity: a review of the evidence. *Journal of Archaeological Science* 22: 705-710.
 99. Papachristos, D.P. and Stamopoulos, D.C. (2002): Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae), *Journal of Stored Products Research* 38: 117-128.
 100. Papachristos, D.P. and Stamopoulos, D.C. (2003): Fumigant toxicity of three essential oils of the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 40(5): 517-525.
-

101. Papachristos, D.P., Karamanoli, K.I., Stamopoulos, D.C., Menkissoglu-Spiroudi, U. (2004): The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say), *Pest Management Science* 60: 514-520.
102. Papachristos, D.P., Stamopoulos, D.C. (2004): Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 40: 517-525.
103. Pascual-Villalobos, M.J., Robledo, A. (1999): Anti-insect activity of plant extracts from the wild flora in southeastern Spain. *Biochemical Systematics and Ecology* 27(1): 1-10.
104. Paster, N., Menasherov, M., Ravid, U., Juven, B. (1995): Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. *Journal of Food Protection* 58: 81-85.
105. Picollo, M.I., Toloza, A.C., Mougabure Cueto, G., Zygadlo, J., Zerba, E. (2008): Anticholinesterase and pediculicidal activities of monoterpenoids. *Fitoterapia* 79: 271-278.
106. Pinto Junior, A.R., de Carvalho, R.I.N., Netto, S.P., Cerutti, F.C., Tavares, A.P., Guerreiro, L., Santos, A.K.N. (2006): The study of behavioral response and control effectiveness of the *Sitophilus zeamais* L. (Coleoptera: Curculionidae) and different concentrations of essential oils. *Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored Product Protection, Campinas, Brazil, 2006*: 829-834.
107. Potenza, M.R., Justi Junior, J., Alves, J.N. (2006): Evaluation of contact activities of plant extracts against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored Product Protection, Campinas, Brazil, 2006*: 811-815.
108. Prates, H.T., Oliveira, A.B., Leite, R.C., Craveiro A.A. (1993): Anti-tick effect and chemical composition of the molasses grass essential oil. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 28(5): 621-625.
109. Prates, H.T., Santos, J.P., Waquil, J.M., Fabris, J.D., Oliveira, A.B., Foster, J.E. (1998): Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research* 34(4): 243-249.
110. Prates, H.T., Santos, J.P., Waquil, J.M., Fabris, J.D., Oliveira, A.B., (1999): The potential use of plant substances extracted from Brazilian flora to control stored grain pests. In: Zuxun, J., Quan, L., Yongcheng, L., Xiangchang, T., Lianghua, G. *Stored Product Protection. Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-product Protection, 14-19 October 1998, Beijing, China*, pp. 820-825.
111. Priestley, C.M., Burgess, I.F., Williamson, E.M. (2006): Lethality of essential oil constituents towards human louse, *Pediculus humanus*, and its eggs. *Fitoterapia* 77: 303-309.

-
112. Qiantai, L., Yongcheng, S. (1998): Studies on effect of several plant materials against stored grain insects. Proceedings of 7th International Working Conference on Stored – product Protection, Beijing, China 1:870-874.
 113. Rabenhorst, J. (1996): Production of methoxyphenol-type natural aroma chemicals by biotransformation of eugenol with a new *Pseudomonas sp.* Applied. Microbiology and Biotechnology 46: 470-474.
 114. Rahman, M.M., Schmidt, G.H. (1999): Effect of *Acorus calamus* L. (*Araceae*) essential oil vapours origins on *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research 35: 285-295.
 115. Rajendran, S., Sriranjini, V. (2008): Plant products as fumigants for stored-products insect control. Journal of Stored Products Research 44(2): 126-135.
 116. Rice, P.J. and Coats, J.R. (1994): Insecticidal properties of several monoterpenoids to the house fly (Diptera: Muscidae), red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae), and southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of Economic Entomology 87: 1172-1179.
 117. Risha, E.M., El-Nahal, A.K.M., Schmidt, G.H. (1990): Toxicity of vapours of *Acorus calamus* L. oil to the immature stages of some stored-product Coleoptera. Journal of Stored Products Research 26: 133-137.
 118. Rozman, V. (1999): "Djelotvornost biljnih preparata za suzbijanje štetnih kukaca u uskladištenoj pšenici", Sveučilište J.J. Strossmayer u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, magistarski rad: 93.
 119. Rozman, V. (2003): Eterična ulja kao fumiganti u zaštiti uskladištenih žitarica. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, 2003: 1-90.
 120. Rozman, V., Kalinović, I., Liška, A. (2006): Bioactivity of 1,8-cineole, camphor and carvacrol against rusty grain beetle (*Cryptolestes ferrugineus* Steph.) on stored wheat. Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored Product Protection, Campinas, Brazil, 2006: 687-694.
 121. Rozman, V., Korunić, Z., Kalinović, I. (2008): Effect of different Quantities of wheat on the effectiveness of the essential oil cineole against stored grain insect pests. Proceedings of the 8th International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, Chengdu, China, September 21-26, 2008: 503-506.
 122. Ryan, M.F., Byrne, O. (1988): Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. Journal of Chemical Ecology 14: 1965–1975.
 123. Saroukolai, A.T., Moharramipour, S., Meshkatalasadat, M.H. (2010): Insecticidal properties of *Thymus persicus* essential oil against *Tribolium castaneum* and *Sitophilus oryza*. Journal of Pest Science 83(1): 3-8.
-

-
124. SAS/STAT Software, 9.1.3. SAS System for Windows, 2002-2003. SAS Institut Inc. Cary, NC, USA.
 125. Schwarz, M., Sonnet, P.E., Wakabayashi, N. (1970): Insect juvenile hormone activity of selected terpenoid compounds. *Science* 167: 191-192.
 126. Shaaya, E., Ravid, U., Paster, N., Juven, B., Zisman, U., Pissarev, V. (1991): Fumigant toxicity of essential oils against four major stored product insects. *Journal of Chemical Ecology* 17: 499-504.
 127. Shaaya, E, Kostyukovsky, M., Eilberg, J., Sukprakarn, C. (1997): Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* 33: 7-15.
 128. Sharma, R.K., Misra, B.P., Sarma, T.C., Bordoli, A.K., Pathak, M.G., LeClercq, P.A. (1997): Essential oils of *Curcuma longa* L. from Bhutan. *Journal of Essential Oil Research* 9: 589-592.
 129. Shukla, A.C. (2009): Volatile oil of *Cymbopogon pendulus* as an effective fumigant pesticide for the management of storage-pests of food commodities. *National Academy Science Letters-India* 32(1-2): 51-59.
 130. Sighamony, S., Anees, I., Chandrakala, T.S., Kaiser, J. (1990): Toxicity of plant oils and their major constituents against stored product insects. *Proceedings of 5th International Conference on Stored Product Protection, Bordeaux, Vol. III: 1713-1714.*
 131. Simpson, B.B. (1995): Spices, herbs and perfumes. *Economic Botany: Plants in our World* McGraw-Hill, New York: 278-301.
 132. Singh, G., Updhyay, R.K. (1993): Essential oils: a potential source of natural pesticides. *Journal of Scientific and Industrial Research* 52: 676-683.
 133. Singh, M., Srivastava, S., Srivastava, R.P., Chauhan, S.S. (1995): Effect of Japanese mint (*Mentha arvensis*) oil as fumigant on nutritional quality of stored sorghum. *Plant Foods for Human Nutrition* 47: 109-114.
 134. Smith, E.H., Salkeld, H.E. (1996): The use and action of ovicides. *Annual Review of Entomology* 11: 331-368.
 135. Snelson, J.T. (1987): *Grain Protectants*, ACIAR, Canberra.
 136. Srimal, R. C. (1997): Turmeric: a brief review of medicinal properties. *Fitoterapia*, LXVIII: 483-393.
 137. Stall, G.B. (1975): Insect growth regulators with juvenile hormon activity. *Ann. Rev. Entomol.* 20: 417-760.
 138. Stamopoulos, D.C., Damos, P., Karagianidou, G. (2007): Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research* 43(4): 571-577.
 139. *Statistica Release 8*, StatSoft Inc. 1984-2008.
-

-
140. Taylor, W.G., Fields, P.G., Sutherland, D.H. (2004): Insecticidal components from field pea extracts: soyasaponins and lysolecithins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 7484-7490.
 141. Tripathi, A.K., Prajapati, V., Aggarwal KK., Kumar, S. (2001): Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1,8-cineole from *Artemisia annua* on progeny production of *Tribolium castaneum*. *Journal of Economic Entomology* 94(4): 979-983.
 142. Tripathi, A.K., Prajapati, V., Verma, N., Bahl, J.R., Bansal, R.P., Khanuja, S.P.S., Kumar, S. (2002): Bioactivities of the leaf essential oil of *Curcuma longa* (Var. Ch-66) on three species of store-product beetles (Coleoptera). *Journal of Economic Entomology* 95(1): 183-189.
 143. Tripathi, A.K., Prajapati, V., Khanuja SPS., Kumar, S. (2003): Effect of d-limonene on three stored-product beetles. *Journal of Economic Entomology* 96(3): 990-995.
 144. Tripathi, A.K., Prajapati, V., Kumar, S. (2003): Bioactivity of *l*-carvone, *d*-carvone and dihydrocarvone toward three stored product beetle. *Journal of Economic Entomology* 96: 1594-1601.
 145. Tunç, I., Berger, B.M., Erler, F., Dağlı, F. (2000): Ovicidal activity of essential oil from five plants against two stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* 36(2): 161-168.
 146. Tunç, I., Erler, F., Dağlı, F., Çalış, Ö (1997): Insecticidal activity of acetone vapours. *Journal of Stored Products Research* 33: 181-185.
 147. Wang, J., Zhu F., Zhou, X.M., Niu, C.Y., Lei, C.L. (2006): Repellent and fumigant activity of essential oil from *Artemisia vulgaris* to *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research* 42: 339-347.
 148. White, G.G. (1982): The effect of grain damage on development in wheat of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research* 18: 115-119.
 149. White, G.G., Lambkin, T. (1988): Damage to wheat grain by larvae of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research* 24(2): 61-65.
 150. Whittaker, R.H. (1970): The biochemical ecology of higher plants. *Chemical Ecology*: 43-70. Academic Press, New York.
 151. Yujie, L., Jianfeng, Z., Lei, F. (2008): Toxic activity of alicin on several stored product pests. *Proceedings of the 8th International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Product – CAF 2008*. Chengdu, China, September 21-26, 2008: 94-98.

7. SAŽETAK

Istraživanje je usmjereno na ispitivanje bioaktivnosti komponenata 1,8-cineola, kamfora i eugenola u sastavu eteričnih ulja aromatičnih biljaka našeg podneblja (lavande, lovora, ružmarina i timijana) za suzbijanje kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst).

U laboratorijskim uvjetima, testirana je kontaktna i fumigantna učinkovitost, komponenata 1,8-cineola, eugenola i kamfora na imago i niže razvojne stadije (ličinke i kukuljice) kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst), kao i njihov utjecaj na potomstvo.

Kontaktnom aplikacijom ostvareni su pozitivni rezultati za sve tri testirane komponente na sva tri stadija (imago, ličinka, kukuljica) *T. castaneum*, a najveću učinkovitosti je imao 1,8-cineol, slijedi eugenol, te kamfor. Fumigantna aktivnost sve tri komponente općenito je bila slabije izražena u odnosu na kontaktnu primjenu, a najbolji učinak na sve testirane razvojne stadije *T. castaneum* je postignut 1,8-cineolom, zatim kamforom, te eugenolom. Fumigacijom u prostoru s 50% ispunjenošću zrnom pšenice zabilježeno je slabije djelovanje sve tri testirane komponente kod svih razvojnih stadija. I ovdje je najbolji učinak imao 1,8-cineol, zatim kamfor, te eugenol, s tim da za stadij imaga eugenol nije imao letalan učinak. Za stadij ličinki, učinkovitost 1,8-cineola je u prostoru s 50% ispunjenošću zrnom pšenice smanjena za 3,5x, eugenola za čak 32x, dok se učinkovitost kamfora nije značajno mijenjala.

Toksičan utjecaj testiranih komponenata (1,8-cineola, eugenola i kamfora) na stadij kukuljice *T. castaneum* bio je izražen letalno, te su komponente imale direktan utjecaj na metamorfozu kukuljica u imago, rezultirajući pojavom „adultoid“ jedinki kao i deformiranih jedinki. Između spolova kukuljica zabilježene su značajne razlike u učinkovitosti testiranih komponenata. Razlike su najjače izražene kod 1,8-cineola, te kamfora, a najslabije kod eugenola. Muški spol je općenito senzibilniji na aplicirane komponente, dok je kod ženskog spola uočeno više deformiranih jedinki, posebice u tretmanu fumigacije kamforom.

Između razvojnih stadija *T. castaneum* testiranih u istraživanju, općenito je najtolerantniji stadij kukuljice na kontaktnu i fumigantnu aplikaciju svih komponenata. Izuzetak je stadij imaga koji je najveću tolerantnost imao samo pri fumigantnoj aplikaciji eugenola.

Utjecaj na smanjenje broja potomstva *T. castaneum* imale su komponente 1,8-cineol i eugenol, dok kamfor nije bio učinkovit u provedenom testu potomstva.

Prema navedenim rezultatima, 1,8-cineol ima visoki potencijal u kontroli kestenjastog brašnara *T. castaneum* (u svim tretmanima za sve razvojne stadije i potomstvo), nadalje kamfor bi se mogao primijeniti u fumigantnoj aplikaciji za suzbijanje imaga *T. castaneum* (u praznom prostoru), a eugenol u kontaktnoj aplikaciji za kontrolu svih razvojnih stadija, te u fumigantnoj primijeni za smanjenje broja potomstva *T. castaneum*. Na temelju njihove djelotvornosti, ove komponente predstavljaju osnovu za iznalaženje novih aktivnih tvari kao alternativu dosadašnjim konvencionalnim sredstvima za zaštitu uskladištenih proizvoda od skladišnih štetnika.

Ključne riječi: 1,8-cineol, kamfor, eugenol, *Tribolium castaneum*, imago, ličinka, kukuljica, potomstvo

8. SUMMARY

Insecticidal toxicity of 1,8-cineole, camphor and eugenol to *Tribolium castaneum* (Herbst)

The research was focused on the bioactivity testing) of 1,8-cineole, camphor and eugenol compounds in the essential oils of the aromatic plants of our climate (lavender, laurel, rosemary and thyme) for the control of red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst).

In laboratory conditions, contact and fumigant activity of 1,8-cineole, camphor and eugenol compounds were tested on adult and immature stages (larvae and pupae) of the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst), as well as their effect on progeny emerging.

Positive results were obtained with contact application for all three tested compounds and on all three stages (adult, larvae and pupae) of *T. castaneum*, with the highest activity of 1,8-cineole, followed by eugenol and camphor. In general, fumigant activity of all three compounds was lower in comparison to contact application, with the best activity of 1,8-cineole, followed by camphor and eugenol on all three developmental stages of *T. castaneum*.

However, lower activity was recorded for fumigation of the space 50% filled with wheat grain for all three tested compounds on all three developmental stages. Similarly, the best activity had 1,8-cineole, followed by camphor and eugenol, whereas eugenol showed no toxicity to the adult stage. The activity of 1,8-cineole and eugenol in the space 50% filled with wheat grain decreased by 3.5 and 32 times, respectively, whereas the activity of camphor had no significant difference on the larvae. Toxicity of the tested compounds (1,8-cineole, eugenol and camphor) to the pupae stage of *T. castaneum* was either lethal or directly influenced their hormonal system, resulting in the appearance of “adultoids“ and deformed units. There were significant differences observed in the efficacy of the tested compounds on the gender of the pupae. The differences were markedly for 1,8-cineole, followed by camphor and the minimal for eugenol. In general, males were more sensitive to the applied compounds, whereas females had more deformed units, especially in the fumigation treatment with camphor.

The most tolerant on the contact and fumigant application of all compounds was the pupae stage compared to all the developmental stages of *T. castaneum* tested in the research. However, the adult stage had the highest tolerance only at fumigant application of eugenol.

1,8-cineole and eugenole compounds had the influence on the reduction of the *T. castaneum* progeny emergence, whereas camphor had no such an effect.

According to the obtained research results, 1,8-cineole has a high potential for the control of the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) (at all treatments, for all the tested stages of development and progeny).

Camphor could be applied for the fumigant control of adult *T. castaneum* (in the empty storages), whereas eugenol could be used both for contact application for the control of all developmental stages and for fumigant application for the reduction of adult *T. castaneum* progeny. Due to their efficiency, these compounds represent a valuable basis for creating new active substances as an alternative to the conventional pest control products.

Key words: 1,8-cineole, camphor, eugenol, *Tribolium castaneum*, adult, larvae, pupae, progeny

9. ŽIVOTOPIS

Anita Liška, rođena 13. rujna 1976. u Osijeku. Srednju školu, Jezičnu II. Gimnaziju završila je 1995. godine u Osijeku. Diplomirala je 06. veljače 2004. godine na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku, iz predmeta Nematologija, obranivši diplomski rad s temom „Utjecaj obrade tla na zajednice nematoda u kukuruzu i pšenici“, te stekla stupanj diplomiranog inženjera poljoprivrede općeg smjera.

Prvog siječnja 2005. godine zasniva radni odnos na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku, Zavodu za zaštitu bilja, na Katedri za uskladištenje i tehnologiju ratarskih proizvoda na radnom mjestu znanstvenog novaka – asistenata. Istovremeno je uključena u znanstveno istraživački rad na znanstvenom projektu “Botanički insekticidi u zaštiti uskladištenih žitarica” (0079003) s voditeljicom prof.dr.sc. Irmom Kalinović, financiran od strane MZOŠ. Godine 2007. nastavlja znanstvenu aktivnost na projektu “Bioaktivnost komponenti eteričnih ulja u zaštiti uskladištenih žitarica” (079-0790570-0430) u okviru znanstvenog Programa MZOŠ-a: 079-0790570 „Ekološki prihvatljiva zaštita bilja“, čiji je voditelj prof.dr.sc. Vlatka Rozman. Sudjelovala je kao istraživač i na međunarodnom znanstvenom projektu (2007-2008) SEE-ERA.NET Pilot Joint Call Research Project: “Development of a non-toxic, ecologically compatible, natural-resource based insecticide from diatomaceous earth deposits of South Eastern Europe to control stored-product insect pests” (INTAS Ref. Nr 06-1000031-9902).

Uključena je i u nastavni program u provođenju vježbi na modulu “Skladištenje i tehnologije ratarskih proizvoda” – Sveučilišnog preddiplomskog studija poljoprivrede, smjera Bilinogojstvo, zatim na modulu „Skladištenje poljoprivrednih proizvoda” - Sveučilišnog diplomskog studija, smjera Bilinogojstvo - Zaštita bilja, kao i na modulu „Skladištenje ratarskih kultura” – praksa - Stručnog studija, smjera Bilinogojstvo/ratarstvo. Do sada je bila član povjerenstva 3 diplomskih rada i 1 završnog rada, kao i mentor 5 završnih radova.

U sklopu TEMPUS JEP 17108 projekta, 2005. godine boravila je u Njemačkoj na Sveučilištu Hohenheim, u vremenu od mjesec dana tijekom kojega je pohađala nastavu na diplomskom studiju “Agricultural Sciences, Food Security and Natural Resources Management”, modul 5107 “Postharvest Technology and Food Quality”.

Poslijediplomski doktorski studij Poljoprivredne znanosti - smjer „Zaštita bilja“ upisala je 2006. godine na kojem je položila sve predmete s prosječnom ocjenom 5,0.

Godine 2009. bila je na međunarodnom znanstvenom usavršavanju „Integrated Management of Insects in Stored Products“ na Institutu IMIDA u Španjolskoj (Murcia, La Alberca).

Anita Liška, aktivno je sudjelovala na stručnim i znanstvenim skupovima i seminarima u zemlji i inozemstvu. Do sada ima ukupno objavljena 23 znanstvena rada, od kojih 6 citiranih u A1 skupini, 5 u A2 skupini, 12 znanstvenih radova u A3 skupini, te 18 ostalih radova i priopćenja. Koautor je na priručnicima: „Najznačajniji štetnici, bolesti i korovi u uzgoju povrća“ i "Najznačajniji štetnici, bolesti i korovi u ratarskoj proizvodnji", financiranih od strane Osječko-baranjske županije. Također je koautor nastavnog teksta “Skladištenje ratarskih proizvoda”, priručnik za vježbe na stručnom studiju.

Član je Društva Agronoma Osijek i Hrvatskog društva biljne zaštite. Aktivno se služi engleskim jezikom. Udana je i majka jednog djeteta.